

GNM 真菌基因组 DNA 提取（离心柱法）试剂盒说明书

【产品名称】GNM 真菌基因组 DNA 提取（离心柱法）试剂盒

【产品货号及规格】

货号	规格
TQ-D072-1	10T/盒
TQ-D072-2	20T/盒
TQ-D072-3	50T/盒
TQ-D072-X	大包装，可定制

【产品介绍】本试剂盒采用可特异结合 DNA 的离心吸附柱和独特的缓冲液体系可以用于快速提取真菌的基因组 DNA。特别适用于霉菌（黑曲霉、木霉、青霉菌等）、酵母菌的基因组 DNA 提取。提取得率高，稳定性好。使用本试剂盒回收的 DNA 可适用于酶切、PCR、文库构建等各种常规实验操作。

【产品组分】

序号	组成	10T/盒	20T/盒	50T/盒
1	缓冲液 A	2mL	4mL	10mL
2	缓冲液 PB	5mL	10mL	25mL
3	Buffer ALJ	2mL	4mL	10mL
4	Buffer ACT	0.1mL	0.2mL	0.5mL
5	Buffer AJH	4mL	8mL	20mL
6	蛋白酶 k	0.15mL	0.3mL	0.75mL
7	洗脱液	2mL	4mL	10mL
8	离心柱	10 个/包	20 个/包	50 个/包
9	收集管	10 个/包	20 个/包	50 个/包

【保存条件及有效期】室温避光保存，有效期 2 年。

【运输条件】室温运输

【操作步骤】

一、实验准备

1. 实验前确保 Buffer AJH 加入无水乙醇，各试剂组份充分混匀。
2. 自备材料：小型高速离心机（最大离心力 $\geq 12,000 \times g$ ）、1.5 mL 离心管、无水乙醇、溶壁酶、RNA 酶、恒温混匀仪、涡旋仪。

二、样本处理

使用前请先在 Buffer AJH 中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶上的标签。

1. 酵母菌：取酵母细胞（最多不超过 5×10^7 cells），12,000 rpm（ $\sim 13,400 \times g$ ）离心 1 min，尽量吸除上清

(菌液较多时可以通过几次离心将菌体沉淀收集到一个离心管中)。

2. 霉菌：挑取真菌菌丝或将培养的菌体 (≤ 100 mg) 加入至真菌研磨预装管中，加入研磨液进行均质处理或者使用液氮研磨。

三、核酸提取

1. 将前处理后的样品加入 200uL 缓冲液 A，涡旋 10s 使菌体充分重悬，确保菌体与缓冲液 A 均匀混合，12,000rpm ($\sim 13,400\times g$) 离心 1min，弃去上清；
2. 加入 460uL 缓冲液 PB 及 40uL 溶壁酶 (50mg/mL) 溶液 (客户自备) 振荡重悬菌体沉淀，37℃ 孵育 30min，12,000rpm ($\sim 13,400\times g$) 离心 2min，弃去上清；

注意：根据菌体数量的不同，所用溶壁酶的浓度及孵育时间可进行适当调整。

3. 加入 200uL Buffer ALJ 和 40uL RNA 酶 (10mg/mL) 溶液 (客户自备) 振荡重悬菌体沉淀，37℃ 孵育 30min；
4. 加入 15uL 蛋白酶 k (20mg/mL)，55℃ 孵育 20min；
5. 加入 10uL Buffer ACT，冰浴 15min 后，12,000rpm ($\sim 13,400\times g$) 离心 10min，离心后小心吸取上清至新的离心管中 (加入 Buffer ACT 冰浴后会产生絮状沉淀，为正常现象)；
6. 加入 500uL Buffer AJH (使用前检查是否加入无水乙醇)，上下颠倒混匀，室温放置 2min；
7. 将上一步所得溶液全部转移至离心柱中 (注意离心柱需预先放入收集管中)。将装有样本的离心柱放入离心机中，以 12,000rpm ($\sim 13,400\times g$) 离心 1min。离心结束后小心倒掉收集管中的废液，将离心柱放回原收集管中；
8. 向离心柱中加入 700uL Buffer AJH (使用前检查是否加入无水乙醇)，12,000rpm ($\sim 13,400\times g$) 离心 1min，倒掉废液后，将离心柱放回收集管。重复此步骤一次；
9. 将经过两次洗涤的离心柱放回收集管中，以 12,000rpm ($\sim 13,400\times g$) 离心 2min，尽量去除离心柱中的残留液体。离心结束后，将离心柱从收集管中取出，置于室温下放置 5min，使吸附材料中残余的 Buffer 彻底挥发干燥；
10. 将干燥后的离心柱转移至新的 1.5mL 离心管中，使用移液器向吸附膜的中间部分悬空滴加 100uL 洗脱液。室温放置 2-5min，使洗脱液与吸附膜上的核酸充分接触，促进核酸洗脱。以 12,000rpm ($\sim 13,400\times g$) 离心 2min，此时，含有核酸的洗脱液会被收集到离心管中。
11. 核酸保存：-20℃ 长期保存。

【注意事项】

1. 避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、pH 值变化，各溶液使用后应及时盖紧盖子。
2. 为了您的安全和健康，请穿实验服并佩戴一次性手套操作。

【基本信息】

生产企业名称/售后服务单位：北京金诺美科技股份有限公司

住所：北京市北京经济技术开发区经海四路 25 号院 16 号楼-01-5 层

联系方式：010-67880228

【说明书版本及修改日期】本说明书已正式发布，本次修订日期为 2025 年 10 月 14 日。

【免责声明】本产品仅供科研使用，请勿用于临床诊断及其他用途。