

D5542 SP Fungal Mini Kit

简易中文步骤

√实验前请按英文说明书正确稀释 SFG3 Buffer 和 SPW Wash Buffer。

➤ 使用【无水乙醇】对 SFG3 Buffer 进行稀释，稀释后室温保存

货号	加入量
D5542-00	6mL
D5542-01	50mL
D5542-02	160mL

➤ 使用【无水乙醇】对 SPW Wash Buffer 进行稀释，稀释后室温保存

货号	加入量
D5542-00	20mL
D5542-01	80mL
D5542-02	80mL (每瓶)

提取步骤 (干燥样品)

1. 转移 10-25mg 干燥样品到新的 1.5mL 或 2mL 离心管中;
2. 加入 600µl SFG1 Buffer 和 4µl RNase A, 最大速度涡旋混匀;
Note: 涡旋确保样品完全悬浮, 且溶液中没有结块, 否则将影响提取产量。
3. 在 65°C 孵育 10-20min, 孵育期间取出颠倒混匀 2-3 次;
4. 加入 210µl SFG2 Buffer, 最大速度涡旋混匀;
5. 冰浴 5min, $\geq 10,000xg$ 离心 10min;
6. 将 Homogenizer Mini Column 放入到 2mL 收集管中, 小心转移上清至 Homogenizer Mini Column 中, 注意不要转移到沉淀, 在 10,000xg 离心 2min;
Note: 延长离心时间不能提高产量。Homogenizer Mini Column 可以去除大部分残留的沉淀物和细胞碎片, 但仍然有少量杂质可以通过 Homogenizer Mini Column 并在收集管中形成沉淀, 在步骤 7 中请勿转移沉淀。
7. 转移澄清的裂解液到新的 1.5mL 离心管, 注意不要转移到沉淀, 测量转移的体积;
Note: 每个样品使用一定体积的裂解液则无需多次测量其体积。
8. 加入澄清裂解液 1.5 倍体积的 SFG3 Buffer, 如转移 500µl 裂解液则需加入 750µl SFG3 Buffer, 涡旋混匀;
Note: SFG3 Buffer 在使用前必须使用无水乙醇稀释备用。
9. 将 HiBind® DNA Mini Column 放入到 2mL 收集管中;
(可选) 柱平衡方法:
 - 1) 加入 100µl 3M NaOH 到 HiBind® DNA Mini Column 中;
 - 2) 静置 4min;

- 3) 最大速度离心 60s;
- 4) 弃滤液, 将 HiBind® DNA Mini Column 重新套回到收集管中。
10. 转移 650µl 裂解液到 HiBind® DNA Mini Column 中, 10,000xg 离心 1min, 弃滤液;
11. 重复步骤 10, 直至将滤液完全过柱。
12. 将 HiBind® DNA Mini Column 套入到新的 2mL 收集管中, 加入 650µl SPW Wash Buffer, 10,000xg 离心 1min, 弃滤液;
Note: SPW Wash Buffer 在使用前必须使用无水乙醇稀释备用。
13. 重复步骤 12, 用 SPW Wash Buffer 进行二次洗涤;
14. 将 HiBind® DNA Mini Column 重新套回到收集管中, 最大速度空柱子离心 2min 干燥;
15. 将 HiBind® DNA Mini Column 套入到新的 1.5mL/2mL 离心管中, 加入 100µl 65°C预热的 Elution Buffer (或灭菌的去离子水) ;
Note: 较小的洗脱体积可以增加 DNA 浓度, 但会导致产量较低, 洗脱体积建议不超过 200µl。
16. 室温下静置 3-5min, 10,000xg 离心 1min;
17. 重复步骤 15-16 进行二次洗脱;
Note: 以下几种方法可提高 DNA 的产量:
 - a) 加入 Elution Buffer 后, 孵育 5min;
 - b) 增加洗脱体积;
 - c) 再次加入新的 Elution Buffer 重复洗脱 (可能提高产量, 但会降低浓度) ;
 - d) 用第一次洗脱的 Elution Buffer 重复洗脱 (可在保持洗脱体积的同时提高产率)。
18. 保存到-20°C中。

提取步骤 (新鲜/冷冻样品)

1. 转移≤100mg 的样品组织到新的 1.5mL 或 2mL 离心管中;
2. 加入 400µl SFG1 Buffer 和 4µl RNase A, 最大速度涡旋混匀;
Note: 涡旋确保样品完全悬浮, 且溶液中没有结块, 否则将影响提取产量。
3. 在 65°C孵育 10min, 孵育期间取出颠倒混匀 2-3 次;
4. 加入 140µl SFG2 Buffer, 最大速度涡旋混匀, ≥10,000xg 离心 10min;
5. 将 Homogenizer Mini Column 放入到 2mL 收集管中, 小心转移上清至 Homogenizer Mini Column 中, 注意不要转移到沉淀, 在 10,000xg 离心 2min;
Note: 延长离心时间不能提高产量。Homogenizer Mini Column 可以去除大部分残留的沉淀物和细胞碎片, 但仍然有少量杂质可以通过 Homogenizer Mini Column 并在收集管中形成沉淀, 在步骤 6 中请勿转移沉淀。

6. 转移澄清的裂解液到新的 1.5mL 离心管，注意不要转移到沉淀，测量转移的体积；
Note: 每个样品使用一定体积的裂解液则无需多次测量其体积。
7. 加入澄清裂解液 1.5 倍体积的 SFG3 Buffer，如转移 500 μ l 裂解液则需加入 750 μ l SFG3 Buffer，涡旋混匀；
Note: SFG3 Buffer 在使用前必须使用无水乙醇稀释备用。
8. 将 HiBind[®] DNA Mini Column 放入到 2mL 收集管中；
(可选) 柱平衡方法：
 - 1) 加入 100 μ l 3M NaOH 到 HiBind[®] DNA Mini Column 中；
 - 2) 静置 4min；
 - 3) 最大速度离心 60s；
 - 4) 弃滤液，将 HiBind[®] DNA Mini Column 重新套回到收集管中。
9. 转移 650 μ l 裂解液到 HiBind[®] DNA Mini Column 中，10,000xg 离心 1min，弃滤液；
10. 重复步骤 9，直至将滤液完全过柱。
11. 将 HiBind[®] DNA Mini Column 套入到新的 2mL 收集管中，加入 650 μ l SPW Wash Buffer，10,000xg 离心 1min，弃滤液；
Note: SPW Wash Buffer 在使用前必须使用无水乙醇稀释备用。
12. 重复步骤 11，用 SPW Wash Buffer 进行二次洗涤；
13. 将 HiBind[®] DNA Mini Column 重新套回到收集管中，最大速度空柱子离心 2min 干燥；
Note: 对柱子的干燥很重要，否则残留的乙醇可能影响下游实验。
14. 将 HiBind[®] DNA Mini Column 套入到新的 1.5mL/2mL 离心管中，加入 100 μ l 65 $^{\circ}$ C 预热的 Elution Buffer (或灭菌的去离子水)；
Note: 较小的洗脱体积可以增加 DNA 浓度，但会导致产量较低，洗脱体积建议不超过 200 μ l。
15. 室温下静置 3-5min，10,000xg 离心 1min；
16. 重复步骤 14-15 进行二次洗脱；
Note: 以下几种方法可提高 DNA 的产量：
 - a) 加入 Elution Buffer 后，孵育 5min；
 - b) 增加洗脱体积；
 - c) 再次加入新的 Elution Buffer 重复洗脱 (可能提高产量，但会降低浓度)
 - d) 用第一次洗脱的 Elution Buffer 重复洗脱 (可在保持洗脱体积的同时提高产率)
17. 保存到 -20 $^{\circ}$ C 中。

中文翻译仅供辅助阅读，详情请以英文说明书为准