# 香菇基因组DNA提取

1. 试剂

* 100mM Tris-HCl, 20mM EDTA, 1.4M NaCl, 2%CTAB, 2%PVP, 2% β-ME
* 苯酚：氯仿：异戊醇（phenol：chloroform: isoamylalcohol，PCI，V:V:V=25:24:1）
* 氯仿：异戊醇（CA，V:V=24:1）
* 10% CTAB
* 3M NaAc （pH5.2）
* 无水乙醇
* 70% 乙醇

2. 实验方法

1）菌丝研磨。取100mg菌丝研磨后加入1.5 mL tμbe中。

2）加入700μL 裂解液，65℃，水浴30~60 min，每隔5 min上下颠倒混匀。

3）12000 rpm离心10min，取上清。

4）加入等体积PCA（吸下层），上下颠倒混匀60~100次（轻），室温静置5 min，至下层液相澄清。

5）12000 rpm离心10min，取上清，不要吸到中间层。

6）加入1/10体积10%CTAB，并加入等体积CA，上下颠倒混匀60~100次（轻），室温静置5 min，至下层液相澄清。

7）12000 rpm离心10min，取上清，不要吸到中间层。

8）重复6，直到无蛋白质沉淀

9）12000 rpm离心10min ，取上清，加入1/10体积3M NaAc（pH5.2）和2倍体积的预冷无水乙醇，-20℃沉淀2h （30 min ）。

10）12000 rpm离心10min，去上清。

11）用70%乙醇洗2次，使沉淀悬浮，稍微离心，用枪头吸掉残留乙醇，晾3~5 min。

12) 用适量TE或ddH2O 溶解沉淀。