

HP 真菌 DNA 提取试剂盒

E.Z.N.A.[®] HP Fungal DNA Kit

货号	D3195-00	D3195-01	D3195-02
反应次数	5 次	50 次	200 次
HiBind [®] DNA Mini Columns	5 个	50 个	200 个
2 mL Collection Tubes	10 个	100 个	400 个
CPL Buffer	5 mL	40 mL	160 mL
CXD Buffer	1 mL	10 mL	40 mL
DNA Wash Buffer	2 mL	15 mL	3 x 20 mL
Elution Buffer	5 mL	15 mL	60 mL
User Manual	✓	✓	✓

★ 保存方式及稳定性

1. 按条件保存的试剂盒保质期为 24 个月（见盒外失效日期），所有组分均可常温运输；
2. 当贮存温度较低时，CPL Buffer 和 CXD Buffer 易析出沉淀，请在使用前把整瓶试剂置于 37°C 中，至沉淀完全溶解，充分混匀后再使用；
3. 本试剂盒仅供科学研究使用。

★ 实验前准备

1. 按照下表提示，使用【无水乙醇】对 DNA Wash Buffer 进行稀释，稀释后室温保存；

货号	无水乙醇 加入量
D3195-00	8 mL
D3195-01	60 mL
D3195-02	80 mL (每瓶)

2. 按照 24 : 1 的比例准备氯仿 : 异戊醇混合液。

★ 提取步骤 —— 干燥样品离心方案

用户自备仪器及耗材:

- ✓ 离心转速可达 12,000xg 的小型离心机
- ✓ 无酶 1.5mL 或 2.0mL 离心管
- ✓ 无水乙醇、异丙醇、氯仿、异戊醇
- ✓ 温度可达 65°C 的孵育装置
- ✓ 涡旋仪
- ✓ (可选) 2-巯基乙醇、无酶水、RNase A(20mg/mL)、3M NaOH

1. 用机械研磨仪或者研钵将干燥样品研磨成粉末状; 称量 10-50mg 样品粉末到 1.5 或 2 mL 离心管中;
2. 加入 600 μ L CPL Buffer, 涡旋混匀, 确保充分分散沉淀;
注意: 按照一组 4-6 个样品处理: 研磨, 加 CPL Buffer, 然后继续步骤 3, 再开始第二组, 干燥的样品量注意不要超过 50mg。样品用量可根据结果来进行调整。
可选: 往裂解液中加入 10 μ L 2-巯基乙醇, 涡旋混匀。
可选: 往裂解液中加入 10 μ L RNase A 去除 RNA。
3. 65°C 孵育 30min, 孵育期间颠倒混匀 2 次;
4. 加 600 μ L 氯仿与异戊醇 (24: 1) 混合物, 涡旋充分混匀;
5. 室温 10,000xg 离心 5min;
6. 转移 300 μ L 上清液到一新的离心管, 注意不要吸到沉淀;
7. 加 150 μ L CXD Buffer 和 300 μ L 无水乙醇, 涡旋混匀;
注意: 加入乙醇后可能会形成絮状沉淀, 但不影响 DNA 的回收。
8. 将 HiBind[®] DNA Mini Column 套入收集管中;

可选柱平衡处理:

- 1) 往空 HiBind[®] DNA Mini Column 内加入 100 μ L 3M NaOH, 静置 4min;
- 2) 室温下 13,000xg 离心 30-60s, 弃除滤液, 将 HiBind[®] DNA Mini Column 套入收集管中。

9. 转移第 7 步得到的混合液到结合柱中（包含所形成的沉淀），室温 10,000xg 离心 1min，弃滤液及收集管；
10. 将 HiBind® DNA Mini Column 套到新的收集管中，加入 650 μ L DNA Wash Buffer（已加无水乙醇正确稀释）至结合柱中，10,000xg 离心 1min，弃滤液；
注意：DNA Wash Buffer 在使用前必须按照说明书用无水乙醇进行稀释。
11. 重复步骤 10；
12. 将 HiBind® DNA Mini Column 套回收集管中，12,000xg 离心空甩 2min；
13. 将 HiBind DNA Mini Column 套入新的 1.5mL 离心管中，加入 50-100 μ L 65°C 预热的 Elution Buffer 或无菌水至结合柱中，室温放置 3-5min，然后 10,000xg 离心 1min 洗脱 DNA；
14. 重复步骤 13 进行二次洗脱，产物放置-20°C 保存。
注意：以下操作可以用来帮助提高 DNA 产量。
 - 加入 Elution Buffer 后，孵育 5min。
 - 增加 Elution Buffer 的洗脱体积。
 - 用新的 Elution Buffer 进行二次洗脱（可以提高产量，但是会降低浓度）。
 - 可以把第一次洗脱的产物重复加到结合柱上进行二次洗脱（这可能会增加产量，同时不增加洗脱体积）。

★ 提取步骤 —— 新鲜或冷冻样品离心方案

用户自备仪器及耗材:

- ✓ 离心转速可达 12,000xg 的小型离心机
 - ✓ 无核酸酶的 1.5mL 或 2.0mL 离心管
 - ✓ 无水乙醇、异丙醇、氯仿、异戊醇
 - ✓ 温度可达 65°C 的孵育装置
 - ✓ 用于冷冻和研磨样品的液氮
 - ✓ 涡旋仪
 - ✓ (可选) 2-巯基乙醇、无酶水、RNase A(20mg/mL)、3M NaOH
1. 把新鲜样品先用液氮浸泡冷冻, 用机械研磨仪或者研钵将样品研磨成粉末状; 然后称量 100mg 样品粉末到 1.5 或 2 mL 离心管中;
 2. 加入 500 μ L CPL Buffer, 涡旋混匀, 确保充分分散沉淀;
注意: 按照一组 4-6 个样品处理: 研磨, 加 CPL Buffer, 然后继续步骤 3, 再开始第二组, 样品量注意不要超过 200mg.
可选: 往裂解液中加入 10 μ L 2-巯基乙醇, 涡旋混匀。
可选: 往裂解液中加入 10 μ L RNase A 去除 RNA。
 3. 65°C 孵育 15min, 孵育期间颠倒混匀 2 次;
 4. 加 500 μ L 氯仿/异戊醇 (24: 1), 涡旋充分混匀;
 5. 室温 10,000xg 离心 5min;
 6. 转移 300 μ L 上清液到一新的离心管, 注意不要吸到沉淀;
 7. 加 150 μ L CXD Buffer 和 300 μ L 无水乙醇, 涡旋混匀;
注意: 加入乙醇后可能会形成絮状沉淀, 但不影响 DNA 的回收。
 8. 按照第 2-3 页 “干燥样品离心方案” 的步骤 8-14 继续完成操作。

★ 提取步骤 —— DNA 低含量样品离心方案

该方案会额外耗用更多的溶液，所用到的所有组分均可单独购买，详情请联系当地指定代理商，查询代理商联系方式可拨打 020-32058915。

用户自备仪器及耗材：

- ✓ 离心转速可达 12,000xg 的小型离心机
 - ✓ 离心速度 > 3,000xg 的吊篮式离心机
 - ✓ 温度可达 65°C的孵育装置
 - ✓ 涡旋仪
 - ✓ 无核酸酶的 1.5mL、2.0mL、15mL、20mL、离心管
 - ✓ 无水乙醇、异丙醇、氯仿、异戊醇
 - ✓ 用于冷冻和研磨样品的液氮
 - ✓ (可选) 2-巯基乙醇、无酶水、RNase A(20mg/mL)、3M NaOH
1. 先用机械研磨仪或者研钵将样品研磨成粉末状；称量样品粉末到 15mL 离心管中；
干燥样品：最多用 200mg 研磨组织；
新鲜/冷冻样品：最多用 400mg 研磨组织；
 2. 加入 9mL CPL Buffer，涡旋混匀，确保充分分散沉淀；
可选：每 1mL CPL Buffer 加入 10 μ L 2-巯基乙醇，涡旋混匀；
 3. 室温孵育 60 min，孵育期间颠倒混匀 2 次；
 4. 加 4.5mL 氯仿/异戊醇 (24: 1)，涡旋充分混匀；
 5. 室温 3,000xg 离心 10min；转移上清液到一新的 15mL 离心管，注意不要吸到沉淀；
 6. 加入 0.7 倍上清体积的异丙醇，涡旋混匀；
 7. 3,000xg 离心 10-20min，弃除上清液，但注意不要倒掉 DNA 沉淀团；
 8. 加 400 μ L 65°C预热的无菌水，涡旋混匀溶解沉淀；
注意：65°C加热可帮助有效溶解 DNA。
 9. 加 20 μ L RNase A (20mg/mL)，充分涡旋混匀；

10. 加 200 μ L CXD Buffer 和 400 μ L 无水乙醇，充分涡旋混匀；
注意：加入无水乙醇后可能会形成絮状沉淀，但不影响 DNA 的回收。
11. 按照第 2-3 页“干燥样品离心方案”的步骤 8-14 继续完成操作。

★ 提取步骤 —— 真空抽滤方案

用户自备仪器及耗材：

1. 按照第 2 页“干燥样品离心方案”的步骤 1-7，第 4 页“冷冻或新鲜样品离心方案”的步骤 1-7，或者第 5 页“DNA 含量低离心方案”的步骤 1-10 准备好裂解结合液；
2. 按英文使用说明准备好真空抽滤器，把 HiBind[®] DNA Mini Column 连接到抽滤器；

可选柱平衡处理：

- 1) 往空 HiBind[®] DNA Mini Column 内加入 100 μ L 3M NaOH；
 - 2) 用真空抽滤让 NaOH 通过结合柱。
3. 转移裂解液到 HiBind[®] DNA Mini Column，小心不要超过结合柱的容积（700 μ L），用真空抽滤让裂解液通过结合柱，转移剩下的裂解液到结合柱，抽滤，直到所有的裂解液都通过结合柱；
 4. 洗涤结合柱：加 650 μ L DNA Wash Buffer（已加无水乙醇稀释），抽滤；
 5. 重复步骤 4，进行第二次 DNA Wash Buffer 洗涤；
 6. 弃去滤液，把 HiBind[®] DNA Mini Column 重新装回收集管，最大速度离心空柱 2min 以甩干结合柱基质；
 7. 把 HiBind[®] DNA Mini Column 装在干净的 1.5mL 离心管上，加入 100 μ L Elution Buffer 或无菌水到结合柱基质中，静置 2min，13,000xg 离心 1min 洗脱出 DNA；

注意：以下操作可以用来帮助提高 DNA 产量。

- 加入 Elution Buffer 后，孵育 5min。
- 增加 Elution Buffer 的洗脱体积。

- 用新的 Elution Buffer 进行二次洗脱（可以提高产量，但是会降低浓度）。
 - 可以把第一次洗脱的产物重复加到结合柱上进行二次洗脱（这可能会增加产量，同时不增加洗脱体积）。
8. 将洗脱的 DNA 保存在-20°C。

★ 产品信息卡



更多详情，请扫描左方二维码获取原文说明书

中文翻译仅供辅助阅读



常见问题合集及操作注意事项

请扫描左方二维码获取



中国总代理：广州飞扬生物工程有限公司

技术支持：020-32051125

企业 QQ：800848200（人工客服在线）

中文网站：omegabiotek.com.cn

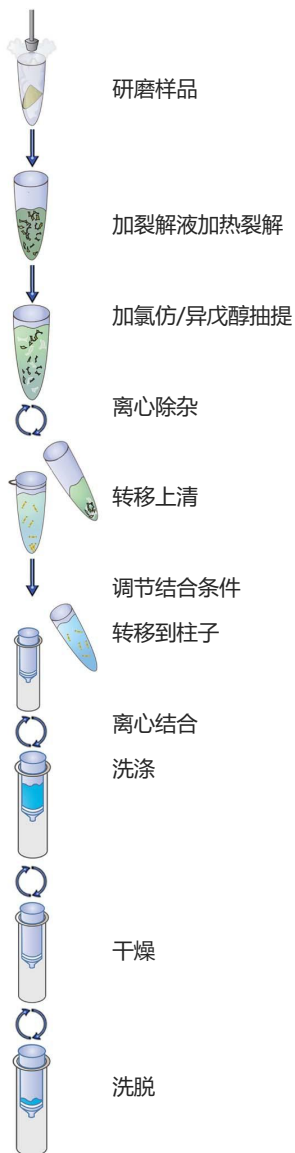
如需查询代理商名录，请关注“飞扬生物”微信号获取

售后保障服务说明

为确保您所使用的试剂为正品来源，请从使用单位所在地指定代理商处购买 Omega bio-tek 产品。由其他渠道购买或任一标签信息(应包括货号、条形码、完整 Lot 号、失效日期)缺失的试剂盒，我司恕不提供任何质量保证及售后服务。

★ 提取步骤示意图

离心操作流程



真空抽滤操作流程

