

真菌 DNA 提取试剂盒

E.Z.N.A.[®] Fungal DNA Mini Kit

货号	D3390-00	D3390-01	D3390-02
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
FG1 Buffer	5 mL	50 mL	180 mL
FG2 Buffer	1 mL	15 mL	40 mL
FG3 Buffer	2 mL	20 mL	80 mL
RNase A	30 μ L	275 μ L	1.1 mL
DNA Wash Buffer	2 mL	20 mL	3 x 25 mL
Elution Buffer	5 mL	15 mL	50 mL
User Manual	✓	✓	✓

★ 保存方式及稳定性

- 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；
- RNase A 长期保存放置 2-8°C；
- 当贮存温度较低时，FG3 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；
- 本试剂盒仅限科学研究使用。

★ 实验前准备

- 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
D3390-00	8 mL
D3390-01	80 mL
D3390-02	100 mL (每瓶)

用户自备仪器及耗材：

- ✓ 离心转速可达 13,000xg 的小型离心机
- ✓ 无核酸酶的 1.5mL 离心管
- ✓ 无水乙醇、异丙醇、无菌水
- ✓ 温度可达 65°C的孵育装置
- ✓ 研钵、研磨杵 (Cat# SSI-1015-39)
- ✓ 涡旋仪
- ✓ 带标准接口的多头真空抽滤装置
- ✓ (可选) 3M NaOH

★ 提取步骤 —— 干燥样品离心方案

1. 用机械研磨仪或者研钵将干燥样品研磨成粉末状，然后称量 10-50 mg 样品粉末到 1.5 或 2 mL 离心管中；
2. 加入 800 μ L FG1 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，立即加入 FG1 Buffer，继续步骤 3，再开始第二组，干燥的样品量注意不要超过 50mg。
3. 65°C 孵育 10min，孵育期间颠倒混匀 2 次；
4. 加 180 μ L FG2 Buffer，涡旋充分混匀；
5. 冰浴 5min，室温 10,000xg 离心 10min。转移上清液到一新的离心管，注意不要吸到沉淀；
6. 加 0.7 倍上清体积的异丙醇，混匀沉淀 DNA；
注意：通常步骤 5 可以转移得到 700 μ L 上清液，这样就需要加 490 μ L 的异丙醇。注意样品不同，上清液的体积可能会有所不同，需要测量体积并正确加入异丙醇。这一步可以去除大部分的多糖并通过后续的步骤来增加 DNA 结合能力（从而提高产量）来提高结合柱的性能。加异丙醇后无需孵育。
7. 室温 10,000xg 离心 2min；
8. 小心吸除上清，注意不要吸到 DNA 沉淀，把离心管倒扣在吸水纸上 1min，把废液吸干，此步无需干燥 DNA；
9. 加 300 μ L 无菌水，65°C加热，涡旋溶解 DNA 沉淀；
注意：65°C短暂加热可以有效地溶解 DNA。

10. 加入 4 μL RNase A, 涡旋混匀;
11. 加入 150 μL FG3 Buffer 和 300 μL 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, 这不影响 DNA 的回收。
12. 将 HiBind[®] DNA Mini Columns 套入收集管中;
可选柱平衡处理:
 - 1) 往空 HiBind[®] DNA Mini Column 内加入 100 μL 3M NaOH, 静置 4min;
 - 2) 室温下 13,000xg 离心 30-60s, 弃除滤液, 将 HiBind[®] DNA Mini Columns 套入收集管中。
13. 转移第 11 步得到的混合液到结合柱中, 室温 10,000xg 离心 1min, 弃滤液及收集管;
14. 将 HiBind[®] DNA Mini Columns 套到新的收集管中, 加入 750 μL 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。
15. 重复步骤 14 进行第二次 DNA Wash Buffer 洗涤;
16. 将 HiBind[®] DNA Mini Columns 套回收集管中, 12,000xg 离心空甩 2min。
17. 将 HiBind[®] DNA Mini Columns 套入新的 1.5mL 离心管中, 加入 50-100 μL 65 $^{\circ}\text{C}$ 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;
18. 重复步骤 17 进行二次洗脱, 产物放置 -20 $^{\circ}\text{C}$ 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

1. 把样品先用液氮浸泡冷冻, 然后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 600 μL FG1 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，立即加入 FG1 Buffer，继续步骤 3，再开始第二组，干燥的样品量注意不要超过 200mg。

3. 65°C 孵育 10min，孵育期间颠倒混匀 2 次；
4. 加 140 μ L FG2 Buffer，涡旋充分混匀；
5. 冰浴 5min，室温 10,000xg 离心 10min。转移上清液到一新的离心管，注意不要吸到沉淀；
6. 加 0.7 倍上清体积的异丙醇，混匀沉淀 DNA；
注意：通常步骤 5 可以转移得到 600 μ L 上清液，这样就需要加 420 μ L 的异丙醇。注意样品不同，上清液的体积可能会有所不同，需要测量体积并正确加入异丙醇。这一步可以去除大部分的多糖并通过后续的步骤来增加 DNA 结合能力（从而提高产量）来提高结合柱的性能。加异丙醇后无需孵育。
7. 室温 10,000xg 离心 2min；
19. 小心吸除上清，注意不要吸到 DNA 沉淀，把离心管倒扣在吸水纸上 1min，把废液吸干，此步无需干燥 DNA；
8. 加 300 μ L 无菌水，65°C 加热，涡旋溶解 DNA 沉淀；
注意：65°C 短暂加热可以有效地溶解 DNA。
9. 加入 4 μ L RNase A，涡旋混匀；
10. 加入 150 μ L FG3 Buffer 和 300 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，这不影响 DNA 的回收。
11. 按照第 3 页“干燥样品离心方案”的步骤 12-18 继续完成操作。

★ 提取步骤 —— 快速离心方案

1. 先用机械研磨仪或者研钵将样品研磨成粉末状，然后称量 < 50mg 的干燥样品/ < 200mg 的冷冻或新鲜的样品粉末到 1.5 或 2 mL 离心管中；
2. 加入 600 μ L FG1 Buffer 和 5 μ L RNase A，涡旋混匀，确保充分分散沉淀，室温放置 1min；
3. 加入 10 μ L 2-巯基乙醇，涡旋混匀；
4. 65°C 孵育 5min，孵育期间颠倒混匀 1 次；
5. 加 140 μ L FG2 Buffer，涡旋充分混匀；
6. 冰浴 5min，室温 10,000xg 离心 10min。转移上清液到一新的离心管，注意不

要吸到沉淀；

注意：通常可以转移得到 600 μL 上清液。上清液的体积会有所不同，干燥的样品上清液会比较低。

7. 加入 0.5 倍上清体积的 FG3 Buffer 和 1 体积的无水乙醇，充分涡旋混匀；

注意：加入无水乙醇后可能会形成絮状沉淀，这不影响 DNA 的回收。

8. 按照第 3 页“干燥样品离心方案”的步骤 12-18 继续完成操作。

★ 提取步骤 —— 真空抽滤方案

1. 按照第 2-3 页“干燥样品离心方案”的步骤 1-11，第 3 页“冷冻或新鲜样品离心方案”的步骤 1-11，或者第 4 页“快速离心方案”的步骤 1-7 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 μL 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 μL ），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 750 μL 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 50-100 μL Elution Buffer 到结合柱基质中，静置 2min，13,000xg 离心 1min 洗脱出 DNA；

注意：

- 确保 Elution Buffer 准确加入到结合膜中央；
- 一次 50-100 μL 洗脱可获得 60-70% 的 DNA，二次洗脱可以达到 90%。
- 用新的 Elution Buffer 进行二次洗脱（可增加产量，但会导致浓度降低）。
- 为了获得更高浓度的 DNA，可以使用 50 μL Elution Buffer 进行洗脱（会稍

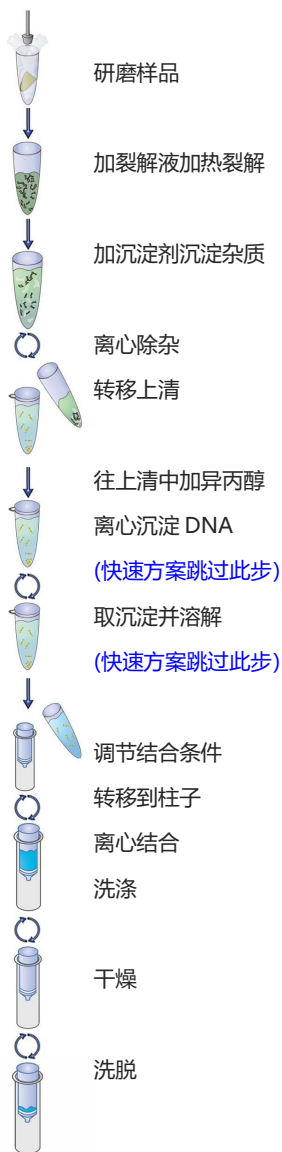
微降低总 DNA 产量)。体积低于 50 μL 会大大降低产量。

- 可以在加入 Elution Buffer 后, 至于 65°C 孵育来提高洗脱效率。

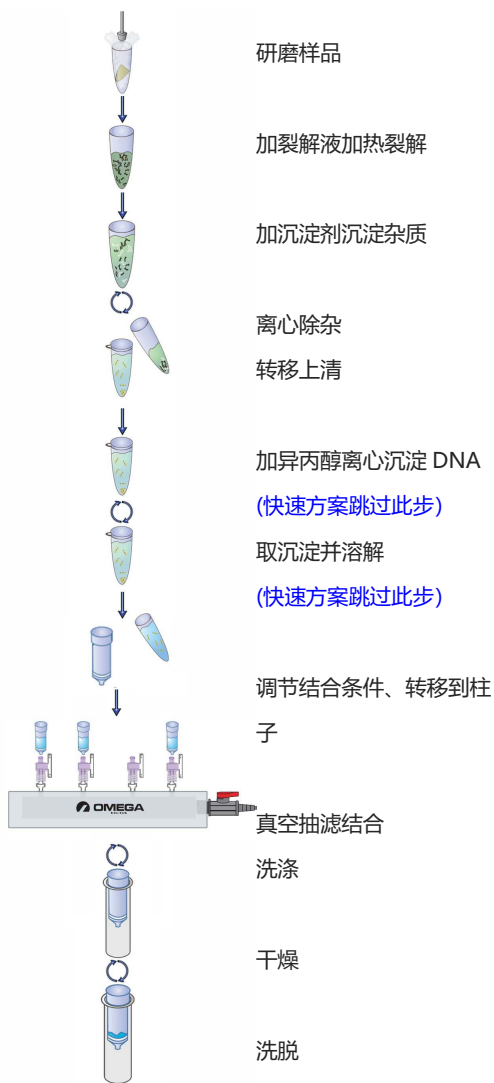
8. 将洗脱的 DNA 保存在 -20°C。

★ 提取步骤示意图

离心操作流程



真空抽滤操作流程



★ 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。