

HP 植物 DNA 提取试剂盒

E.Z.N.A.[®] HP Plant DNA Mini Kit

货号	D2485-00	D2485-01	D2485-02	D2485-03	D2485-04
反应次数	5 次	50 次	200 次	500 次	1000 次
HiBind [®] DNA Mini Columns	5 个	50 个	200 个	500 个	1000 个
2 mL Collection Tubes	10 个	100 个	400 个	1000 个	2000 个
CSPL Buffer	5 mL	40 mL	150 mL	2 x 200mL	4 x 200mL
CXD Buffer	1 mL	10 mL	40 mL	100 mL	200 mL
DNA Wash Buffer	2 mL	20 mL	2 x 40 mL	4 x 50 mL	8 x 50 mL
Elution Buffer	5 mL	15 mL	60 mL	125 mL	250 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，CSPL 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
D2485-00	8 mL
D2485-01	80 mL
D2485-02	160 mL (每瓶)
D2485-03	200 mL (每瓶)
D2485-04	200 mL (每瓶)

2. 按照 24: 1 的比例准备氯仿: 异戊醇混合液；

选做: 准备浓度为 20mg/mL 的 RNase A 溶液。放置 -20°C 保存，每个样品需要加 2 μ L 的用量。

★ 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
- ✓ 涡旋仪
- ✓ (可选) RNase A(20mg/mL)、2-巯基乙醇、无酶水

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 600 μ L CSPL 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 CSPL 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。
可选: 加入 10 μ L 2-巯基乙醇，涡旋混匀。
可选: 往裂解液中加入 2 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/异戊醇 (24: 1) 混合物, 涡旋充分混匀, 室温 10,000xg 以上离心 10min。
5. 转移 300 μ L 上清液到一新的离心管, 注意不要吸到沉淀;
6. 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, 建议打散后过柱。
7. 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 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 Columns 套入收集管中。
8. 转移第 6 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;
9. 将 HiBind[®] DNA Mini Columns 套到新的收集管中, 加入 700 μ L DNA Wash Buffer 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。
10. 重复步骤 9;
11. 将 HiBind[®] DNA Mini Columns 套回收集管中, 12,000xg 离心空甩 2min;
12. 将 HiBind DNA Mini Columns 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;
13. 重复步骤 12 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
- ✓ 涡旋仪
- ✓ 用于冷冻和研磨样品的液氮
- ✓ (可选) RNase A(20mg/mL)、2-巯基乙醇、无菌水

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 500 μ L CSPL 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 CSPL 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: 加入 10 μ L 2-巯基乙醇, 涡旋混匀。
可选: 往裂解液中加入 2 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 800 μ L 氯仿/异戊醇 (24: 1) 混合物, 涡旋充分混匀;
5. 室温 12,000xg 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, 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 7-13 继续完成操作。

★ 提取步骤 —— DNA 含量低样品离心方案

用户自备仪器及耗材:

- ✓ 离心转速可达 12,000xg 的小型离心机
- ✓ 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
- ✓ 无酶水或者 10mM Tris (pH9.0 或 8.5)
- ✓ RNase A(20mg/mL)
- ✓ (可选) 2-巯基乙醇

1. 先用机械研磨仪或者研钵将样品研磨成粉末状:
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. 把样品称取到 15ml 离心管内, 加入 9 mL CSPL Buffer, 涡旋混匀, 确保充分分散沉淀;
可选: 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 4.5 mL 氯仿/异戊醇 (24: 1) 混合物, 涡旋充分混匀;
5. 室温 3,000xg 离心 10min; 转移上清液到一新的 15 mL 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 20min, 延长离心时间并不能提高产量; 倒弃上清液注意不要倒掉 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加热是必要的可以有效溶解 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 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。
11. 按照第 3 页“干燥样品离心方案”的步骤 7-13 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：

- ✓ 真空抽滤装置（货号 VAC-08）
- ✓ 抽滤瓶、负压泵

1. 按照第 2-3 页“干燥样品离心方案”的步骤 1-6，第 4 页“冷冻或新鲜样品离心方案”的步骤 1-6，或者第 5-6 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 700 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，13,000 \times g 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



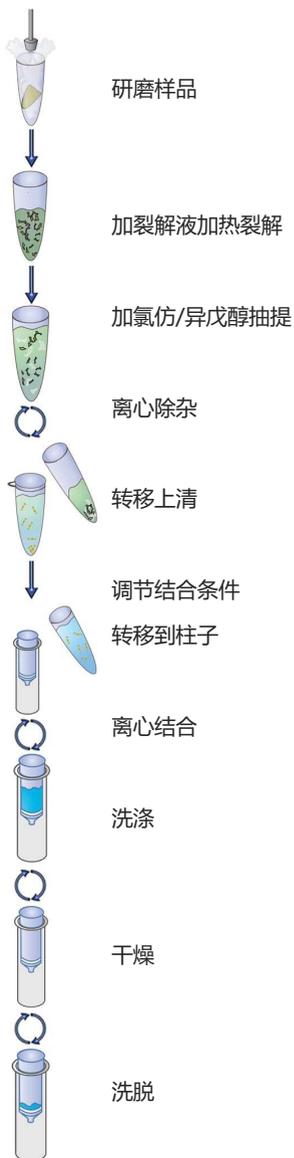
如需查询代理商名录，请关注“飞扬生物”微信号获取

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

