

环境 DNA 提取试剂盒说明书

产品组成

环境 DNA 提取试剂盒	50 次制备
Cat. No.	4107050
核酸纯化柱	50 个
2 ml 离心管	50 个
2 ml 样品管	50 个
蛋白酶 K 贮存液	1.2 ml
Buffer PD	55 ml
Buffer ST	12 ml
Buffer TE	25 ml
Buffer P	28 ml
Buffer WB (浓缩液)	9.5 ml
说明书	1 份

产品储存

1. 蛋白酶 K 贮存液可常温 (0~30℃) 运输和存放, 有效期为 12 个月; 长期不用可储存于 -20℃, 可延长有效期至两年。
2. 其他试剂与物品如果储存于常温 (0~30℃), 可在两年内保持使用性能无明显变化; 如果将产品贮存于 2~8℃, 可延长产品的有效期至两年以上。

技术支持

杭州新景生物试剂开发有限公司研发部: e-mail: technical@simgen.cn, 电话: 400-0099-857。

产品介绍

本产品适合从粪便, 土壤, 水样, 生物膜, 拭子, 唾液, 生物体液中分离总 DNA。被溶解的样本中的各种微生物的总 DNA 均可结合到核酸纯化柱上, 降解的蛋白与腐殖酸等 PCR 抑制物则被过滤除去, 基因组 DNA 经 Buffer WB 洗涤后, 用 Buffer TE 洗脱, 即可用于各种分子生物学实验。

用户需自备的试剂与物品

1. 去离子纯水、无水乙醇与异丙醇
2. 1.5ml 离心管和 2 ml 离心管。
3. 移液器吸头 (为避免样品间的污染, 请选用含有滤芯的移液器吸头)
4. 一次性手套及防护用品和纸巾
5. 台式少量离心机 (可配离心 1.5ml 离心管和 2ml 离心管的转子)
6. 样品匀质仪、水浴锅和旋涡震荡器

使用前准备

- 1) 如果离心机有制冷功能, 请将温度设置到 25℃。
- 2) 将水浴锅温度设置到 37℃ 和 70℃, 并将 Buffer PD、Buffer ST 和 Buffer TE 在 70℃ 温育。
- 3) 根据试剂瓶标签上的指示在 Buffer WB 中加入无水乙醇, 并在标签的方框中打勾作好“乙醇已加”的标记。

操作步骤：

- 按图表中样本类型取样，加入到2 ml样品管中。加入1 ml Buffer PD，旋紧管盖，放入样品匀质仪中，最高速处理30秒；如果没有样品匀质仪，则在漩涡振荡器上剧烈旋涡振荡3分钟。

样品类型	最大输入量
土壤	500 mg
粪便	200 mg
植物/种子	200 mg
体液样本	500 μ l
拭子洗液等（或悬浮于核酸保护剂中的细菌、细胞样本）	500 μ l

* 如果使用冻干的土壤粉末，应再补加100 μ l去离子纯水以便于土壤颗粒的悬浮。

- 加入20 μ l蛋白酶K贮存液，盖上管盖混匀，70 °C水浴15分钟。水浴期间每隔5分钟剧烈旋涡振荡30秒。
- 加入200 μ l Buffer ST，剧烈旋涡振荡30秒混匀，13000 rpm 离心10分钟。
- 吸取上清（约1ml左右）转移到另一个洁净的有盖2 ml离心管(用户自备)中。
- 加入800 μ l异丙醇，温和地翻转4~6次混和均匀。13000 rpm 离心10分钟。
- 弃上清，3000 rpm 离心5-10秒使残留的上清液聚集到离心管底部。用移液器吸尽残留的上清液，保留管底沉淀。
- 加入100 μ l 70°C温育的Buffer TE，漩涡振荡直至沉淀全部溶解。
- 加入500 μ l Buffer P，温和地翻转4~6次混和均匀。吸取混合液加入到核酸纯化柱中（核酸纯化柱置于2ml离心管中），盖上管盖，12000 rpm 离心30秒。
- 弃2ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到2ml 离心管中，在核酸纯化柱中加入600 μ l Buffer WB，盖上管盖，12000 rpm 离心30秒。

* 滤液无须彻底弃尽，如果要避免粘附在离心管管口的滤液对离心机的污染，可将2ml 离心管在纸巾上倒扣拍击一次。

* 确认在Buffer WB中已经加入无水乙醇。

- 弃2ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到2ml 离心管中，14000 rpm 离心1分钟。

* 如果离心机的离心速度达不到14000 rpm，则用最高速离心2分钟。

* 请勿省略该步骤，否则可能因所纯化的核酸中混有乙醇而影响后续的PCR效果。

- 弃2ml 离心管，将核酸纯化柱置于一个洁净的1.5 ml 离心管中，在纯化柱的膜中央加入100~200 μ l 70°C温育的Buffer TE，盖上管盖，室温静置1分钟，12000 rpm 离心30秒。

* 如果离心机没有防泄漏的盖子，请将离心条件改为8000 rpm 离心1分钟，以免1.5ml 离心管管盖脱落而损伤离心机。

- 弃纯化柱，洗脱的DNA可立即用于各种分子生物学实验；或者将DNA储存于-20°C备用。

* 用作PCR扩增时，作为模板的DNA不应超过终反应体积的1/10（比如终反应体积为50 μ l，则DNA加入量不应超过5 μ l）。