

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
2 ml 样品管	50 套
核酸纯化柱	50 套
蛋白酶 K 贮存液	1.2 ml
Buffer PD	55 ml
Buffer ST	12 ml
Buffer TE	20 ml
Buffer P	28 ml
Buffer WB（浓缩液）	10 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（2~8℃储存的产品使用前应先恢复到室温后再使用）。

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，拭子洗液，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. 无水乙醇和异丙醇，可能需要去离子纯水
2. 1.5 ml 离心管和 2 ml 离心管。
3. 移液器及吸头（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. 台式小量离心机（可配离心 1.5 ml 离心管和 2 ml 离心管的转子）
6. 样品匀质仪、水浴锅和旋涡振荡器

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 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做好“乙醇已加”的标记。

操作步骤：

- 按图表中样品类型取样，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，则在旋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
液体样本（水样、生物体液、拭子洗液等，或悬浮于核酸保护剂中的细菌、细胞样本）	500 µl

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

- 加入20 µl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 µl Buffer ST，剧烈旋涡振荡30秒混匀，13000 rpm离心10分钟。
- 吸取上清（约1 ml左右）到一个洁净的有盖2 ml离心管(用户自备)中。
- 加入800 µl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 µl 70°C温育的Buffer TE，旋涡振荡直至沉淀全部溶解。
- 加入500 µl 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，盖上管盖，12000 rpm离心30秒。
- 弃2 ml离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到2 ml离心管中，在核酸纯化柱中加入600 µl 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2 ml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2 ml离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到2 ml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2 ml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 µl 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 1.5 ml 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 µl，则 DNA 加入量不应超过 5 µl）。