

环境水样DNA提取试剂盒

产品货号：26922

产品规格：50T/100T

产品简介：

Water DNA Kit提供了从各种来源的水体样品中快速简便的提取基因组DNA的方法。水体样品中存在大量微生物，这些微生物被作为重要的生态指示剂被广泛应用。从水体中提取高纯度的基因组DNA是水体环境值检测非常重要的手段。水体样品中含有大量的抑制因子如腐殖酸、金属离子等，这些物质即使微量存在于纯化后的DNA中也会对下游反应产生影响，如对PCR、限制性酶切等。因而纯化水体DNA的关键在于如何有效的去除水体中的抑制因子。

产品组成：

产品名称	50T	100T	保存条件
Buffer W1	40ml	80ml	室温
Buffer W2	6ml	12ml	室温
Buffer W3	6ml	12ml	室温
Buffer W4	10ml	16ml	室温
Buffer W5	20ml	37ml	室温
Glass Beads	20g	40g	室温
Buffer WB	30ml	55ml	室温
DNA Wash Buffer	13ml	26ml	室温
纯化柱子	50个	100个	室温
收集管	50个	100个	室温

注：浓缩的DNA Wash Buffer需用无水乙醇按如下稀释：50T加入52ml；100T加入104ml无水乙醇

实验前准备：

请仔细阅读该手册并熟悉各个步骤，在开始之前准备好所有的试剂盒组分和必需的器材。

需自备器材：

无水乙醇、1.5ml离心管、水浴锅、离心机

标准操作步骤：

1. 使用直径为47mm，孔径为0.22-0.45 μ m的滤膜对水体样品进行过滤，过滤体积取决于水体样品的浊度和微生物的含量。用剪刀将1/2张或整张过滤后的滤膜尽量剪碎，置于2ml离心管中，以便于后面的裂解步骤。
2. 加入0.4g Glass Beads，再加入1.2ml Buffer W1与50 μ l Buffer W2。涡旋器高速震荡3-5min。
注意：Buffer W2是我司独特的腐殖酸除去剂，50 μ l对大部分样品来说足以有效除去腐殖酸等抑制因子。对一些腐殖酸含量特别丰富的土壤，Buffer W2的量可以适当增加，但不能超过150 μ l，否则会严重影响DNA的得率。
3. 加入250 μ l Buffer W3（W3如有沉淀37 $^{\circ}$ C水浴完全溶解后再用），涡旋1-2min。70 $^{\circ}$ C水浴处理10min。期间振荡几次。
注意：如果要纯化革兰氏阳性菌的DNA，请在70 $^{\circ}$ C处理完后，再90 $^{\circ}$ C水浴处理2min。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

4. 12000rpm(~13000×g)离心1钟, 转1ml上清到1.5ml离心管中, 加入200μl Buffer W4混匀。
注意: 转移上清时确保不要吸取到沉淀, 转移的上清量最好不超过80%。
5. 冰上放置5min。12000rpm(~13000×g)离心1钟。 转移上清到新的2.0ml离心管中。
注意: 转移上清时确保不要吸取到沉淀, 转移的上清量最好不超过80%。
6. 加入0.7倍体积的异丙醇颠倒混匀。12000rpm(~13000×g)离心2钟。小心地倒掉上清。
注意: 如果样品中DNA含量很低, 加入异丙醇混匀后-20°C放置1小时。
7. 加入350μl Buffer W5, 待沉淀完全溶解后加入300μl无水乙醇, 混匀。
注意: 为加速溶解沉淀, 可置样品于55°C水浴中。
8. 将上混合液转移到GBC吸附柱中(吸附柱放入收集管中), 12000rpm离心30秒, 倒掉滤过液。
9. 向GBC吸附柱中加入500μl Buffer WB, 12,000 rpm(~13,000×g)离心30秒, 倒掉废液。
10. 向GBC吸附柱 中加入600μl DNA Wash Buffer(使用前请先检查是否已加入无水乙醇), 12,000rpm(~13,000×g)离心30秒, 倒掉废液, GBC吸附柱放入收集管中。
11. 向GBC吸附柱 中加入600μlDNA Wash Buffer, 12,000rpm(~13,000×g)离心30秒, 倒掉废液, 将GBC吸附柱放入收集管中。
12. 12,000 rpm(~13,000×g)离心2分钟, 以彻底晾干吸附材料中残余的漂洗液。
13. 将GBC吸附柱转入一个干净的离心管中, 向吸附膜的中间部位悬空滴加30-100μl洗脱缓冲液TE或灭菌去离子水, 室温放置2min。
14. 室温下, 离心(>13.000)1min, 以洗脱DNA。保留含DNA的流出液。

储存和稳定性:

室温保存, 一年有效。Buffer W2与Buffer W3可能有沉淀产生, 37°C水浴溶解后即可。

可能出现的问题与对策

问题	原因	建议
低DNA量	Buffer W2使用过量	按说明书加入适量的Buffer W2, DNA含量的样品, 适当减少C2的量。
	洗脱液不足	重复洗脱或增加洗脱体积(见前面的注意事项), 加入DNA洗脱液并将柱子置于70°C放置5min有助于提高产量。
	洗涤不恰当	DNA洗涤缓冲液在使用前用无水乙醇按指示稀释。
低A ₂₆₀ /A ₂₈₀ 比率	没有使用Buffer WB洗涤柱子	按说明书用Buffer WB洗涤柱子一次
	由于放置时间不够导致细胞裂解或蛋白降解不完全	延长放置时间, 确保没有可见的组织碎块剩余
没有洗脱出DNA	加入Buffer W5后没有加入无水乙醇	样品过柱前, 必须加入无水乙醇调整结合条件
	浓缩洗涤液没有加入乙醇	使用前用指定体积的乙醇稀释DNA洗涤缓冲液。
下游应用不好	提取的DNA含盐量高	DNA Wash Buffer必须按说明书的要求, 用无水乙醇稀释
	提取的DNA含乙醇	洗脱前, 柱子必须高速离心1min, 以彻底干燥硅胶膜
	抑制PCR	增加Buffer W2的用量, 并且在第四步操作时, 确保不吸取到沉淀。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com