

Water DNA Extraction Mini Kit

水体 DNA 小量提取试剂盒

本产品适合于从水体等样品中提取 DNA。试剂盒基于吸附柱纯化技术，在提取过程中根据 DNA 吸附柱特定条件下与核酸特异性结合的特点，达到快速分离纯化核酸的效果。快速分离纯化过程中无需使用有毒的酚氯仿抽提，也无需进行耗时的醇类沉淀，整个提取过程只需 40~60 分钟，提取的 DNA 纯度高，稳定性好。得到的 DNA 可直接用于 PCR 及其他下游实验。

产品组份

产品编号	DNW366-01 (10 Preps)	DNW366-02 (50 Preps)	DNW366-03 (250 Preps)
Buffer STL	12 ml	60 ml	2×150 ml
Buffer W1A	4.4 ml	22 ml	66 ml
Buffer W2A	3 ml	15 ml	2×40 ml
Buffer EB	2 ml	10 ml	50 ml
Buffer IRP	5 ml	25 ml	100 ml
Buffer GLB	15 ml	70 ml	2×150 ml
DNA Extraction Mini Columns II	10	50	250
2ml Collection Tube	10	50	250
Glass Beads I	3 g	13 g	50 g

保存条件

本产品可在室温(15~25℃)保存 12 个月，长期保存时需置于 2-8℃。低温下，Buffer STL 及 Buffer W1A 可能会有沉淀形成，需 37℃水浴让沉淀完全溶解。

准备事项

- Buffer W1A/W2A 使用前，须按瓶子标签所示，加入无水乙醇进行稀释。

样品前处理：

1. 用灭菌镊子取收集了水体微生物的滤膜，剪碎装在 2~15ml 离心管中。加入 1ml Buffer STL 和 0.2g Glass Beads。最高速度涡旋混匀 10 分钟，也可采用研磨仪进行混匀（具体参数根据仪器型号进行调整）。
可以采用 0.22μm 或其他大小孔径的滤膜富集水体中微生物。样品量控制在裂解液能完全覆盖的程度，样品量过多会导致裂解不充分，纯度和产量下降。
2. 70℃加热 10 分钟进一步裂解样品。
3. 恢复至室温，加入 350μl Buffer IRP 至样品中。充分涡旋震荡混匀，冰上或 4℃放置 5 分钟。13,000x g 离心 3 分钟。上清液待用。

纯化步骤

1. 转移所有上清液至 2ml 离心管中，加入等倍体积 Buffer GLB，颠倒 3~4 次，涡旋混匀 15 秒。
2. 把 DNA Extraction Mini Columns II 装在 2ml 收集管中。将混合液 (<750μl) 转移至过滤柱中。13,000 x g 离心 20 秒。
3. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。转移剩余混合液 (<750μl) 至柱子。13,000 x g 离心 20 秒。
4. 重复 2~3 步直至所有混合液过柱。
5. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。加入 600μl Buffer W1A 至柱子上。13,000 x g 离心 10 秒。
6. 倒弃滤液，把柱子装回收集管。加入 600μl Buffer W2A 至柱子中，13,000 x g 离心 10 秒。

7. 倒弃滤液，把柱子装回收集管。加入 600 μ l Buffer W2A 至柱子中，13,000 \times g 离心 10 秒。

8. 倒弃滤液，把柱子装回收集管。13,000 \times g 离心 2 分钟干燥柱子。

该步骤去除 DNA 柱中残留的乙醇，乙醇残留会影响后续的酶促反应。当洗脱体积低于 50 μ l 时，该步骤结束后应打开 DNA 柱盖子于室温空气干燥 10 分钟后再进行洗脱，避免乙醇残留对酶促反应的影响。

9. 将柱子转移至 1.5ml 离心管。加入 30~100 μ l Buffer EB 至柱子膜中央。室温静置 3 分钟，13,000 \times g 离心 1 分钟。

柱子最小的洗脱体积是 30 μ l，若对产量要求较高，推荐进行第二次洗脱，将洗脱液重新加至柱子膜中央，室温静置 3 分钟，13,000 \times g 离心 1 分钟。

10. 弃去柱子，把 DNA 保存于-20 $^{\circ}$ C。

常见问题

1. DNA 产量低

- 样品前处理过程中必须涡旋足够长的时间充分打散样品。
- 加入 Buffer GLB 后未充分混匀。
- 水体中微生物含量较低，增大样品用量，等比例增加裂解液及结合液用量。

2. 下游结果不理想

- **腐殖酸残留**：加入 Buffer IRP 后必须充分涡旋混匀，对于腐殖酸含量高的样品冰浴不可省略，经过离心后上清颜色应该明显变淡。
- **转移上清时注意尽可能避免吸入沉淀，导致 DNA 纯度下降。**
- **洗脱不充分**：可将洗脱液预热至 60℃ 后再进行洗脱，提高洗脱效率。
- **DNA 出现降解**：对于杂质较多的水体样本，可省略 70℃ 加热的过程。

3. 纯度低

- **洗涤不充分**：必要时可进行两次 W1A 洗涤，充分洗去杂质。
- **转移上清时注意尽可能避免吸入沉淀。**