

# 操作手册

## 环境样品通用 **DNA** 提取试剂盒

Catalog No. TD430-50 (50 次反应)

### Highlights

- 可从粪便，土壤，水样，生物膜，拭子，唾液，生物体液中快速提取到高纯度的 DNA/RNA(含 micro RNA)。
- 该产品创新的裂解体系可以完美裂解格兰仕阳性菌，阴性菌，原生物，藻类，真菌，病毒。
- 获得的 DNA/RNA，产量高、纯度好，可以直接用高通量测序等下游分子生物学实验。

Ver.1.2.6

## 产品组成:

试剂盒组成	保存	50 次
裂解管（选配）	室温	50 个
DNA/RNA 保护剂（选配）	室温	50 ml
微生物 DNA 结合液	室温	50 ml
微生物 DNA 洗涤液 1	室温	50 ml
微生物 DNA 洗涤液 2	室温	60 ml
抑制物去除液	室温	30 ml
无 DNase/RNase 水	室温	10 ml
抑制物去除柱	室温	50 个
2 号柱 CR	室温	50 个
3 号柱 F	室温	50 个
收集管（2ml）	室温	200 个

Note –售出后一年内产品质量是可以保证。试剂已经过大量的常规检测来保证其可操作性。此产品仅供研究并且需要由专业人员来使用。试剂盒中的部分试剂是有刺激性的。请带好手套和防护眼镜。

## 特性:

- **样品:** 可有效的从 200mg 以内的哺乳动物粪便, 250mg 以内土壤, 200mg 以内植物/种子和 50-100mg (湿重) 的真菌细菌细胞, 生物膜和水样中有效的提取到细菌, 真菌, 原生生物, 病毒, 线粒体和宿主 DNA,
- **纯度:** 获得的 DNA 产量高、纯度好,  $A_{260}/A_{280} > 1.8$ ,  $A_{260}/A_{230} > 1.8$ , 得到的 DNA/RNA 可应用于高通量测序等各种分子生物学实验。
- **大小:** 15-20kb DNA。
- **产量:** 2 号 CR 的最大结合能力为 25 $\mu$ gDNA。

## 操作步骤:

整个操作步骤是由2个步骤组成: (I) 样品裂解匀浆 (II) 核酸纯化

### (I) 样品裂解匀浆

以下离心步骤均在 10,000-16,000 x g 下室温 (20-30°C) 离心 30 秒, 如无特殊说明。

1. 直接添加样品到裂解管中, 然后添加 1ml 的微生物裂解液 (或我公司样本保存液) 到裂解管中, 拧紧盖子防

样品类型	最大输入量
粪便	200mg
土壤	250mg
植物/种子	200 mg
液体样品	250µl
细胞 (重悬在核酸保护剂中 或PBS等液体中)	50-100 mg ( $2 \times 10^9$ 细菌, $2 \times 10^8$ 酵母细胞, $2 \times 10^7$ 哺乳动物细胞/动物细胞)
样本保存液配套产品	750µl

止泄漏, 如果样品已经保存在添加了核酸保护剂的耗材中, 则直接进行第二步。

2. 在涡旋仪上最大速下振荡 5 分钟混匀。(如果使用高频振荡器时间可以适当缩短)
3. 离心裂解管 1 分钟。

### (II) 核酸纯化

4. 将上一步所得上清 (最多 400µl) 加到 3 号柱 F 中, 3 号柱 F 套在收集管内, 在  $\geq 8,000 \times g$  下离心 1 分钟,

去除 3 号柱 F。

(根据不一样品分别操作)

粪便等其他非土壤样品	土壤样品
添加 1, 200 $\mu$ l 的微生物 DNA 结合液到上一步收集管内的过滤液中。混匀。	添加 800 $\mu$ l 的微生物 DNA 结合液和 400 $\mu$ l 95%的乙醇到上一步收集管内的过滤液中。混匀

- 直接添加 800 $\mu$ l 上一步的混合物到套在收集管内的 2 号柱 CR 内, 在 10,000 x g 下室温 (20-30 $^{\circ}$ C) 离心 1 分钟。
- 去除滤出液, 重复步骤 5.
- 添加 400 $\mu$ l 的微生物 DNA 洗涤液 1 到 2 号柱 CR 里, 2 号柱 CR 里套在一个新的收集管内, 在 10,000 x g 下离心 1 分钟, 去除滤出液。
- 添加 700 $\mu$ l 的微生物 DNA 洗涤液 2 到 2 号柱 CR 里, 在 10,000 x g 下离心 1 分钟, 去除滤出液。
- 添加 200 $\mu$ l 的微生物 DNA 洗涤液 2 到 2 号柱 CR 里, 在 10,000 x g 下离心 1 分钟, 去除滤出液。
- 将 2 号柱 CR 取出放入一个干净的 1.5ml 离心管内, 直接在吸附膜的中间部位加 100 $\mu$ l (最少 50 $\mu$ l) 无 DNase/RNase 水, 静置 1 分钟, 在 10,000 x g 下离心 1 分钟洗脱 DNA。
- 将抑制物去除柱套在一个新的收集管内, 添加 600 $\mu$ l 的抑制物去除液, 在  $\geq$ 8,000 x g 下离心 3 分钟。
- 将洗脱的 DNA 放入制备好的抑制物去除柱内, 抑制物去除柱套在一个干净的 1.5ml 离心管内, 并在 10,000 x g 下离心 3 分钟, 得到的 DNA 可进行后续试验