

## 五、操作步骤

- a. 取水样于离心管中 13000rpm 以上(或者超速离心)离心 10-20 分钟, 倒掉上清, 称取 0.1--0.3g 沉淀到干净的离心管中(如果沉淀小于 0.3g 或 0.3ml, 可以不换离心管), 加入 1ml 的抽提液, 加入 5ul 的溶液 A, Vortex 1-2 分钟, 充分混匀后 37°C 水浴 10 分钟(每隔 2-3 分钟剧烈震荡混匀)。
- b. 加入 100ul 溶液 B, Vortex 1-2 分钟, 充分混匀后 65°C 水浴 10 分钟(每隔 2-3 分钟剧烈震荡混匀)。
- c. 10000rpm 离心 10 分钟取上清至新的 1.5ml 离心管。
- d. 加入 1/3 体积的蛋白沉淀液, 充分颠倒混匀。
- e. 冰浴 8 分钟, 13000rpm 离心 10 分钟取上清。
- f. 纯化柱的处理: 在纯化柱中间加入 500ul 的溶液 C, 静置 1 分钟, 10000 rpm 离心过滤, 此步是为了增加柱子过滤杂质及腐殖酸的能力。
- g. 将步骤 e 得到的上清液加入到处理过的纯化柱中, 低速离心(2000g) 过滤, 收集下滤液(下滤液含有 DNA)。
- h. 准确估计下滤液的体积, 加入 0.6 倍体积的异丙醇, 充分混匀, 13000 rpm 离心 10 分钟, 小心倒掉上层悬液, 倒扣离心管 2 分钟晾干, 最后用 30ul 洗脱缓冲液 EB 溶解沉淀即可。(注: 如果沉淀还不是很干净, 还可以用 70%乙醇洗涤沉淀两次, 最后用洗脱缓冲液 EB 溶解)

## 目 录

一、试剂盒组成、储存、稳定性.....	1
二、原理简介.....	2
三、试剂盒特点.....	2
四、注意事项.....	2
五、操作步骤.....	3

## 一、试剂盒组成、储存、稳定性

试剂盒组成	保存	50次 (DP4005)	100次 (DP4006)
抽提液	室温	50 ml	100 ml
溶液 A (蛋白酶 K)	-20°C	750 $\mu$ l	1.5 ml
溶液 B	室温	5 ml	10 ml
蛋白沉淀液	4°C (一个月) -20°C (长期)	18 ml	36 ml
溶液 C	4°C (一个月) -20°C (长期)	25 ml	50 ml
洗脱缓冲液 EB	室温	5 ml	10 ml
纯化柱	室温	50 个	100 个
收集管 (2ml)	室温	50 个	100 个

本试剂盒在室温储存 12 个月不影响使用效果。

### 注意事项

1. 溶液 B 低温时可能出现析出和沉淀，可以在 65°C 水浴几分钟帮助重新溶解，恢复澄清透明后冷却到室温即可使用。
2. 避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、PH 值变化，各溶液使用后应及时盖紧盖子。

## 二、原理简介

独特的抽提和裂解体系迅速裂解细胞（壁）和灭活细胞内核酸酶，不需要借助玻璃珠破壁，有效保证了基因组 DNA 的完整性，经过特殊处理的纯化柱能有效的去除杂质和腐殖酸，极大的提高了 DNA 的纯度，用本试剂盒快速简便（1 小时内）提取基因组 DNA 纯度极高，适合做 PCR 等下游反应。

## 三、试剂盒特点

1. 经过特殊处理的纯化柱能有效的去除杂质和腐殖酸。
2. 兼容性强，适用于各种不同的水样。
3. 不需要使用有毒的苯酚等试剂，也不需要乙醇沉淀等步骤。
4. 快速，简捷，单个样品操作一般可在 60 分钟内完成。
5. 高纯度， $OD_{260}/OD_{280}$  典型的比值达 1.7~1.9，长度可达 23kb 左右，可直接用于 PCR，Southern-blot 和各种酶切反应。

## 四、注意事项（实验前必须首先阅读这部分！）

1. 所有的离心步骤均可在室温完成，使用转速可以达到 13,000 rpm 的传统台式离心机，如 Eppendorf 5415C 或者类似离心机。  
溶液 B 低温容易形成沉淀，可在 65°C 水浴帮助溶解。
2. 由于水样中微生物含量极少，电泳检测可以选择高灵敏度的可见光透射仪 (EP2018) 或者 pgDtect™ 匹克级核酸检测系统，染料可以选择 SYBR GREEN I 或者 picoGreen。PCR 检测可以选择百泰克细菌 16S 扩增检测试剂盒 (PR8801)