天净沙系列

CAT#:240213

常温运输及保存

水生沉积物 DNA 纯化试剂盒

Aquatic Sediment DNA Purification Kit

使用手册 V1.0

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

产品及特点

水生沉积物是研究环境宏基因组学的重要材料，但其 DNA 来源极其复杂，并且干扰物质繁多，十分棘手。本公司针对上述难点，经过精心研发，推出水生沉积物专用的 DNA 纯化试剂盒。它具有下列特点：

1. 即开即用，免去用户自己优化的繁琐步骤。
2. 可以提取水体沉积物中所有生物的 DNA，包括原生动物、藻类、真菌、细菌、病毒和游离 DNA，尤其适合宏基因组学的研究。
3. 去污染效果好，得到的 DNA 可以直接作为 PCR 模板或酶切，不需要再进行去腐殖酸等处理。
4. 操作过程简单快速，整个操作不到 60 分钟。
5. 产量高，每克水生沉积物一般可以提取到 5-50 μg DNA，片段长度在 20-50 Kb，OD260/280 一般都在 1.8 以上。
6. 本产品足够 50 次水生沉积物 DNA 微量提取，每次可以处理 0.3-0.5 克样本。
7. 本试剂盒只能用于科研。

规格及成分

本产品使用大扁盒包装

成分	编号	规格	包装
水生沉积物DNA提取溶液 A	240213a	25 mL	30 mL 本色瓶
水生沉积物DNA提取溶液 B	240213b	25 mL	30 mL 棕玻瓶
水生沉积物DNA提取溶液 C	240213c	75 mL	125 mL 本色瓶
离心吸附柱	220144	50套	塑料袋
通用洗柱液	220143	50 mL	60 mL 本色瓶
DNA 洗脱液（基因组纯化专用）	220125	10 mL	10 mL 本色瓶
酸洗玻璃珠（宏基因组专用）	240213d	25 g	30 mL 本色瓶
使用手册	240213sc	1份	无

运输及保存

常温运输及保存，保存期为一年。

自备试剂

无菌水。

使用方法

1. 如果需要提取样本中包括病毒 DNA、噬菌体 DNA 和游离 DNA 的所有 DNA：取一个 1.5 mL 塑料离心管，天平去皮，加入 0.3-0.5 g 水生沉积物，待用。
2. 如果不需要提取其中的病毒 DNA 和游离 DNA：取一个 1.5 mL 塑料离心管，天平去皮，加入 0.3-0.5 g 水生沉积物，再加入 1 mL 无菌水，振荡半分钟后 12000×g 常温离心 2 分钟，弃上清（含游离 DNA 和病毒颗粒和噬菌体颗粒），留沉积物。
3. 如果有液氮，优先选择液氮研磨：用塑料研钵，在液氮中将上述水生沉积物研磨成粉，

	然后转移到一个干净的 1.5 mL 塑料离心管中，加入 500 μL 水生沉积物 DNA 提取溶液 A，常温涡旋震荡 3 分钟。 4. 如果没有液氮，只能选择玻璃珠破碎法：在装有水体沉积物的离心管中，加入 500 μL 水生沉积物 DNA 提取溶液 A 和 0.5 克的酸洗玻璃珠（宏基因组专用），常温涡旋震荡 10 分钟。注意：一定要观察管底，确保管底的玻璃珠涡旋起来，而不是只有管内液体表面在振荡。 5. 在离心管中再加入 500 μL 水生沉积物 DNA 提取溶液 B，涡旋震荡 3 分钟。 6. 12000×g 常温离心 2 分钟，将透明的上清液全部转移到一个 5 mL 的干净的塑料离心管中。不要取下层的液体。 7. 在上清中加入 3 倍体积（约 900 μL）的水生沉积物 DNA 提取溶液 C，颠倒 10 次重复混匀。 8. 转移 0.75 mL 混合液到离心吸附柱上，室温放置 2 分钟，然后 12000×g 离心 1 分钟，倒掉穿透液。 9. 再重复上步操作两次，将所有混合液挂柱。 10. 在离心吸附柱中加入 500 μL 通用洗柱液，12000×g 离心 1 分钟，倒掉穿透液。此步可以洗涤掉杂质。 11. 重复上步操作一次。 12. 12000×g 空柱离心 1 分钟，去掉残留液体。 13. 将离心吸附柱转移到一新的 1.5 mL 塑料离心管中，加入 50-100 μL DNA 洗脱液（基因组提取专用），室温放置 1 分钟，12000×g 离心 1 分钟，穿透液即为水生沉积物 DNA。 14. 为了得到更多的 DNA 样品，可以重复上步操作 1 次。 15. 所得 DNA 即可立即用于 NanoDrop 浓度测定，PCR 或其他实验，也可放-20℃长期保存。
疑难解答	Q: 如何判断提取的ＤＮＡ没有腐植酸污染? A: 一是目测法，即看得到的溶液是否无色。如果呈淡棕黑色或淡黄色，说明可能是少量残留的未除尽的腐植酸。二是检测最大光吸收。注意：有腐植酸污染并不表示 DNA 不能使用，有的腐殖酸并不抑制 PCR 扩增。 Q: 腐殖酸的最大吸收波长是多少? A: 腐植酸（humic acid）是一大类呈棕黑色或黑色的物质，其结构千差万别，水生沉积物中腐殖酸的组成和特点随水生沉积物不同而不同，所以其最大吸收波长也各不相同，有的水生沉积物的腐殖酸在 260 nm 有最大吸收（见 Appl. Environ. Microbiol., 63：

	4993，1997），有的则在 340 nm。所以用特定的波长测定 OD 值时波长的选定要根据水生沉积物而决定。Sigma, Fluke 等公司出售的腐植酸产品成分一般比较简单，其最大吸收波长不能推广到成分更为复杂的水生沉积物腐殖酸样品。 Q: 是否腐植酸都会抑制后续的 DNA 反应? A: 否，因为腐植酸是一大类物质的统称，他们的结构和特性各不相同，所以是否对后续反应有影响最好通过实验来验证。如果用提取的 DNA 溶液原液进行 PCR 失败，而对照样品（已知的不含污染的 DNA）成功，说明可能抑制作用。 Q：如果得到的 DNA 样品还是含有抑制后续反应的腐植酸，如何去除? A:如果提取的 DNA 原液不能扩增,可以将样品稀释 10 倍、100 倍或更高倍速再进行 PCR，抑制作用一般可以解除。如果仍然抑制，可以使用本公司的 PCR 抑制物清除剂。如果仍然不能解除，则可以通过腐殖酸清除剂（过柱法）去除。
关联产品	水生沉积物腐殖酸清除剂