天净沙系列

CAT#:220150

常温运输及保存

DNA 洗脱液（胶回收专用）

DNA Elution Buffer (Gel Extraction-Specific)

使用手册 V1.02

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

用绝大多数文献报道的方法从土壤或湖海沉积物中提取的 DNA 都含有棕黑色或黑色的腐殖酸的污染，用本公司基因的土壤 DNA 纯化试剂盒从泥碳（腐殖酸含量超过 50%）等腐殖酸丰富的土壤样品中提取的 DNA 也有腐殖酸污染，它们往往对 PCR 等后续反应有极大的抑制作用。本产品从基因柱式 DNA 胶回收试剂盒改进而得，专门用于从土壤 DNA 样品中清除腐殖酸污染。

1. 去污染效果好，能使腐殖酸的浓度降低 10 倍以上。
2. DNA 回收率高，一般都在 80%以上。
3. 操作过程简单快速，只需要 10 分钟。
4. 扩容性好，可小规模操作，也可以大规模操作。
5. 处理后的样品原液或稍微稀释后即可用于 PCR。
6. 本产品只能用于科研。

规格及成分

本产品采用大扁盒包装

成分	编号	规格	包装
吸附柱活化液	220224	25 mL	30 mL 本色瓶
腐殖酸清除专用上柱液	220150a	25 mL	30 mL 本色瓶
离心吸附柱	220144	30 套	自封袋
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
使用手册	220150sc	1 份	无

运输及保存

常温运输及保存，有效期一年。

自备试剂

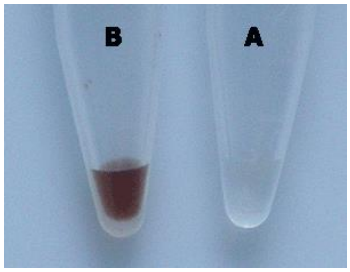
无。

使用方法

1. 活化离心吸附柱：将 0.7 mL 吸附柱活化液加入到离心吸附柱中，套上套管后静置 2 分钟，室温 13000 g 离心 1 分钟，倒掉收集管中的液体。套上套管后再短暂离心半分钟后倒弃穿透液。套上套管后待用。已经活化的离心吸附柱最好当天使用。
2. 将 600 μL 专用上柱液与不超过 100 μL 的含腐殖酸的 DNA 溶液轻柔混匀。如果 DNA 溶液体积超过 100 μL, 专用上柱液的体积需按 1:6 (DNA 溶液:专用上柱液) 的比例相应增加。本试剂盒多提供了 7 mL 上柱液供此情况下使用。如果需要更多上柱液，则需要另购。
3. 将离心管中的溶液转移到离心吸附柱中，套上收集管，放于离心管架上，静置 3-5 分钟。

4. 室温 13000 g 离心 1 分钟，倒掉收集管中的液体。若一次加不完，可分两次加入并离心。
5. 加入 0.5 mL 通用洗柱液（第一次使用前需要在瓶中加入自备的无水乙醇 30 mL，混匀后方可使用）于吸附柱中，13000 g 离心 1 分钟，弃收集管中废液。
6. 重复上步洗涤操作 1 次。
7. 13000 g 离心半分钟以去除离心柱中的残留液体（含乙醇）。
8. 将离心柱置于一新的干净的离心管（自备）中，加入 50 μL DNA 洗脱液 3.0，并静置 3-5 分钟。
9. 12000-15000 g 离心 1 分钟，离心管底部所得溶液即为纯化的 DNA 溶液，可立即用于后续实验或者放冰箱长期保存。

使用效果



图注：从泥碳(腐殖酸含量大于60%)中提取的DNA用本产品处理前(B)和处理后(A)的颜色对比。处理前OD340为4.0（4为所用分光光度计的上限，实际读数可能远高于4），处理后降低到0.3。处理前的原液、10倍和100倍稀释液均无PCR扩增，而处理后均可以扩增。

疑难解答

Q: 如何判断提取的ＤＮＡ没有腐植酸污染?

A：方法一是目测法，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。方法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?

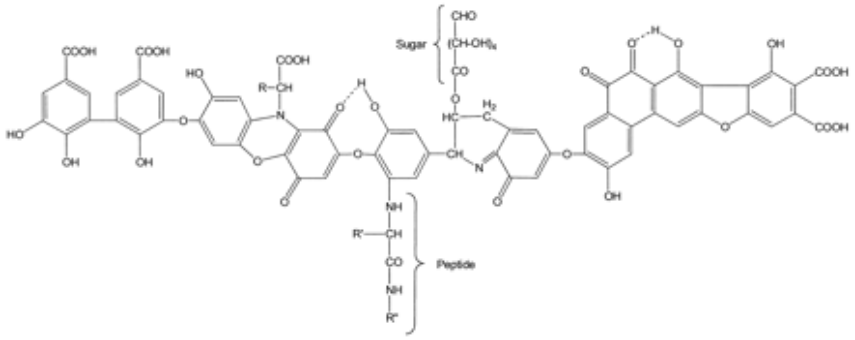
A：腐植酸（humic acid）是一大类呈棕黑色或黑色的物质,其结构千差万别，土壤中腐殖酸的组成和特点随土壤不同而不同，所以其最大吸收波长也各不相同。有的土壤的腐殖酸的最大吸收波长在 260 nm（见 Appl. Environ. Microbiol., 63：4993, 1997），有的则在 340 nm，所以用特定的波长测定 OD 值时波长的选定要根据土壤而决定。Sigma, Fluka 等公司出售的腐植酸产品成分一般比较简单，其最大吸收波长不能推广到成分更为复杂的土壤腐殖酸样品。

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，它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 溶液进行反应而反应没发生，而对照样品（已知的不含污染的 DNA）能够发生，说明可能有抑制作用。

Q：除本方法外，还有什么有效方法去除 DNA 样品中的腐植酸?

A：可以先电泳，然后用超大片段胶回收试剂纯化 DNA，如此得到的 DNA 原液一般可以直接扩增。

	Q：本产品与柱式 DNA 胶回收试剂盒有何区别? A：本产品由柱式 DNA 胶回收试剂盒改进而来，主要区别一是使用了不同的上柱液，减少了硅胶膜对 DNA 的非特异吸附，更适用于微量 DNA 样品；二是上柱液中含有腐殖酸去除试剂，适合于土壤 DNA 样品。 Q：在用土壤 DNA 进行细菌专一性 PCR 时，为何没加 DNA 模版的阴性对照有扩增产物出现? A：这是由于使用的 Taq DNA 聚合酶一般从 E.coli 表达菌株中提取，提取过程中污染了 E.coli 的基因组 DNA，而使用的广谱细菌专一性引物可以识别所有细菌 DNA 基因组 DNA 模版，所以会产生扩增。建议使用高质量的 Taq DNA 聚合酶。
技术资料	腐殖酸及其特点 腐植酸（humic acid）是动、植物的残骸经过微生物的分解转化和成千上万年的复杂化学反应而产生的，广泛存在于土壤表面和江海沉积物中的一大类呈棕黑色或黑色的物质,其典型的分子结构如下:  腐殖酸的特点一是结构千差万别，二是能与金属离子复合，三是能跟很多有机分子相互作用。由于这些特点，一般 DNA 提取方法很难将各种腐殖酸分子与土壤 DNA 分离。污染的腐植酸可以抑制ＰＣＲ反应和限制性内切酶酶切反应，还可以降低ＤＮＡ的杂交效率和质粒的转化效率。由于腐殖酸是一大类物质，其组成和特点随土壤不同而不同，所以其最大吸收波长也各不相同，有的土壤的腐殖酸在 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 值不是定量腐殖酸的最佳方法，波长的选定要根据土壤的不同而决定。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土壤腐殖酸样品。
关联产品	土壤腐殖酸清除剂（过柱法，含 RNase-free DNase）