**淤泥基因组DNA提取试剂盒**

**（离心柱型）**

**货号：KTSM2622**

**■ 产品简介：**

本试剂盒适用于从淤泥中提取基因组DNA。结合先进的硅基质膜技术，能够专一的结合DNA，并最大限度去除淤泥微生物中杂蛋白及其他有机物。本产品无需乙醇沉淀，1小时内即可完成总DNA的提取，具有高效、快速、方便之特点。

**■ 主要成分**：

|  |  |
| --- | --- |
| **产品组成** | **KTSM2622（50次）** |
| 平衡液LB | 30 ml |
| 缓冲液QF | 60 ml |
| 溶菌酶 | 1 ml |
| 蛋白酶K | 500 µl |
| 裂解液LC | 30 ml |
| 结合液LN | 60 ml |
| 漂洗液PW | 15 ml |
| 洗脱液EB | 15 ml |
| 吸附柱C1（含2 ml收集管） | 50个 |

**■ 保存条件**：

室温（15-25℃）

**■ 自备试剂**：

无水乙醇。

**■ 注意事项：**

1. 从新鲜采取的土样中所提取得DNA产率更高；
2. 第一次使用前应按照试剂瓶标签说明在漂洗液PW中加入相应的无水乙醇；
3. 若下游实验对RNA污染较敏感，可在70℃水浴孵育后加入10 µl浓度为10 mg/ml的Rnase A溶液，Rnase A本试剂盒并未提供，如需要可单独向本公司订购。

**■ 操作步骤：**

（1）取约250 mg淤泥，加入250 mg玻璃珠和1 ml缓冲液QF，震荡混匀1 min。

（2）12,000 rpm离心2 min，弃上清。

（3）沉淀中加入500 µl裂解液LC，20 µl溶菌酶，37℃摇床震荡20 min（220 rpm）。

（4）加入10 µl蛋白酶K，然后将离心管置于70℃水浴10 min，其间颠倒离心管混匀样品数次。

**注：如需去除RNA，可在上述步骤完成后，加入10 µl浓度为10 mg/ml的Rnase A溶液，震荡混匀，室温放置几分钟。**

（5）12,000 rpm离心2 min，吸取上清液到新的1.5 ml离心管中。

（6）加入2倍体积的结合液LN，充分颠倒混匀。

（7）柱平衡：向吸附柱C1中加入500 µl平衡液LB，12,000 rpm离心1 min，弃收集管中滤液，将吸附柱放入收集管中。

（8）将混匀的液体转入吸附柱C1中，12,000 rpm离心30 sec，弃掉废液。（吸附柱容积约为800 µl左右，可分次加入离心）

（9）向吸附柱C1中加入600 µl漂洗液PW（**使用前请先检查是否已加入无水乙醇**），12,000 rpm离心30 sec，倒掉废液，将吸附柱C1放入收集管中；

（10）重复操作步骤（9）；

（11）空柱12,000 rpm离心2 min。室温放置5-10 min，除去残留乙醇；

**注：漂洗液中的乙醇会影响后续酶促反映，此处应尽量晾干残留的漂洗液。**

（12）将吸附柱放入一个干净的离心管中，在吸附膜的中间部位滴加50-100 µl洗脱缓EB，室温放置1 min，12,000 rpm离心2 min洗脱DNA，可立即用于下游分子生物学实验或-20℃保存。

**注：将洗脱得到的溶液重新加入吸附柱中，重复步骤12可增加DNA得率。若后续实验对pH、EDTA敏感，需使用ddH2O做洗脱液。**