

# D5525 Water DNA Kit

## 简易中文步骤

√实验前请按说明书正确稀释以下溶液。

➤ 使用【无水乙醇】对 DNA Wash Buffer 进行稀释，稀释后室温保存。

货号	加入量
D5525-00	6mL
D5525-01	60mL
D5525-02	100mL

➤ 使用前每 1mL SLX-Mlus 加入 10 $\mu$ l  $\beta$ -巯基乙醇。

### 提取步骤：

- 使用 0.22 $\mu$ m 或 0.45 $\mu$ m 的滤膜过滤收集水样中的微生物或细菌；  
Note: 收集多少体积的水样取决于水样中所含有的微生物的多少或水样的浑浊度。
- 将收集有微生物的滤膜适当剪小、剪碎并转移至 50mL 离心管中；
- 加入 3mL SLX-Mlus Buffer 和 500mg Glass Beads X，最大速度剧烈涡旋 5-10min；
- 加入 1mL DS Buffer；
- 70°C水浴 10min，期间取出混匀 2-3 次；
- 加入 1mL P2 Buffer，涡旋 30s 混匀，放置冰浴 5min，室温下 4,000xg 离心 10min；
- 将上清液转移到新的 50mL 离心管中，加入 0.7 倍体积的异丙醇，上下颠倒混匀 20 次，室温下 4,000xg 离心 10min；
- 小心去除上清，加入 400 $\mu$ l Elution Buffer，涡旋混匀 20s，65°C水浴 10min；  
Note: 如希望提取无 RNA 污染的 DNA，可在此步骤加入 10 $\mu$ l RNase A (25mg/mL)。
- 转移样品到 1.5mL 离心管，加入 100 $\mu$ l cHTR Reagent，涡旋混匀 10s，室温下静置 2min，14,000xg 离心 3min；  
Note: 使用 cHTR Reagent 前充分悬浮均匀；如此时溶液颜色较深，可重复步骤 9。
- 转移上清液（约 400 $\mu$ l）至新的 1.5mL 离心管，加入等体积的 XP1 Buffer，涡旋混匀；
- 将 HiBind<sup>®</sup> DNA Mini Column 套入到 2mL 收集管中，转移步骤 10 中的混合液至 HiBind<sup>®</sup> DNA Mini Column，10,000xg 离心 1min，弃滤液；
- 将 HiBind<sup>®</sup> DNA Mini Column 套回到 2mL 收集管中，加入 300 $\mu$ l XP1 Buffer，10,000xg 离心 1min，弃滤液；
- 将 HiBind<sup>®</sup> DNA Mini Column 套入到新的 2mL 收集管中，加入 750 $\mu$ l DNA Wash Buffer，最大速度离心 1min，弃滤液；  
Note: DNA Wash Buffer 使用前必须按照说明书加入无水乙醇稀释。

14. (可选) 重复步骤 13;
15. 将 HiBind® DNA Mini Column 套回到 2mL 收集管中, 最大速度空柱子离心 2min;
16. 将 HiBind® DNA Mini Column 套入到新的 1.5mL 收集管中, 加入 50-100µl Elution Buffer, 65°C 孵育 5min, 最大速度离心 1min;  
Note: 该操作能将 70% 的 DNA 洗脱下, 也可重复步骤 16 再次洗脱, 产量提高, 而浓度将降低。
17. 将洗脱的 DNA 保存至 -20°C。

中文翻译仅供辅助阅读, 详情请以英文说明书为准