



ANBIOSCI TECH LTD



PowerWater® DNA Isolation kit

强力水样 DNA 提取试剂盒

(提取已过滤水样滤膜微生物基因组 DNA)

货号	提取次数	滤膜
14900-50-NF	50 次	不含
14900-100-NF	100 次	不含

简介

PowerWater® DNA Isolation Kit 可提取各种过滤好的水样基因组 DNA。利用我们的专利抑制因子去除技术®(IRT)，就算水样中含大量污染物，也能顺利地提取出高质量高得率的 DNA。该试剂盒可兼容市面上所有类型的水样滤膜。与我们的 UltraClean® Water DNA Isolation Kit 不用在于：研磨珠套管改用了创新优化的研磨珠混合、修改的裂解缓冲液配方、IRT 技术和减少样品体积使得可以在一个小型离心管中完成所有操作。最终 DNA 体积为 100 µl，可直接用于下游实验。

操作预览

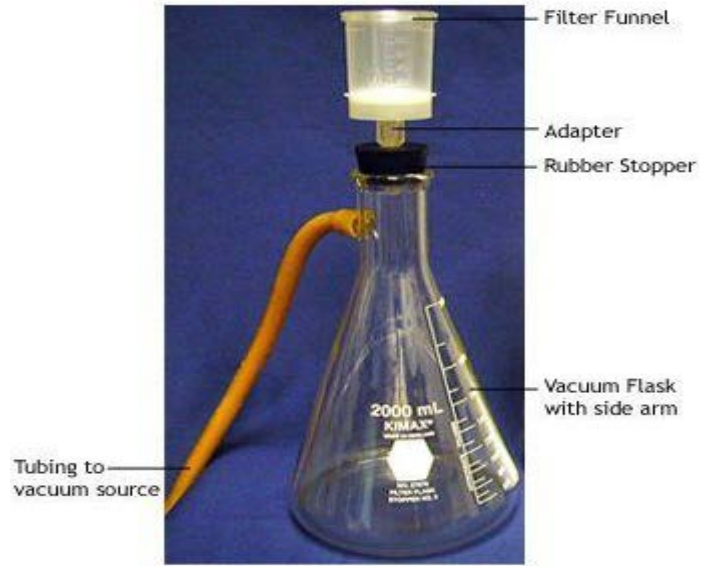
PowerWater® DNA Isolation Kit 从过滤好的水样滤膜开始。已预先装入滤膜的灭菌 100ml 一次性过滤漏斗可单独从 MOBIO 订购，或自备。把滤膜放入到特殊的含有混搭研磨珠的 5ml 珠磨研磨管中，加入裂解缓冲液，在涡旋仪的驱动下对滤膜微生物进行快速充分裂解。去除蛋白和抑制因子后，总 DNA 选择性吸附到 MOBIO 的硅胶离心柱上。高质量的 DNA 洗脱下来可直接用于 PCR、qPCR 等下游实验。

相关产品	货号	提取次数
Vortex Adapter for Vortex Genie® 2	13000-V1-15	Holds 4 (5 ml or 15 ml) Tubes
	13000-V1-5	Holds 6 (5 ml) Tubes
Water Filter (0.45 µm)	14800-10-WF	10 units
	14800-25-WF	25 units
	14800-50-WF	50 units
	14800-100-WF	100 units
Water Filter (0.22 µm)	14880-10-WF	10 units
	14880-25-WF	25 units
	14880-50-WF	50 units
	14880-100-WF	100 units
Vortex Genie® 2 Vortex	13111-V-220	1 unit (220V)
	13111-V	1 unit (120V)
RapidWater™ DNA Isolation Kit	14810-50-NF	50 preps (No filters)
	14810-100-NF	100 preps (No filters)
PowerVac™ Manifold	11991	1 manifold
PowerVac™ Mini System	11992	1 unit + 20 adapters
PowerVac™ Mini Spin Filter Adapters	11992-10	10 adapters
	11992-20	20 adapters



设备要求

- 5ml 离心机 (≤4000g)
- 一次性/可重复使用滤过漏斗
- 滤膜 (使用可重复使用滤过漏斗时)
- 微型离心机 (13000g)
- 移液器
- Vortex-Genie®2 涡旋仪 (MO BIO 货号#13111-V-220)
- 涡旋仪适配器 (MO BIO 货号#13000-V1-15 或 13000-V1-5)
- 真空抽滤系统



Vacuum Filtration System

试剂盒组分

	货号: 14900-50-NF	货号: 14900-100-NF
组分	量	量
PowerWater® Bead Tubes	50	100
Solution PW1	55ml	110ml
Solution PW2	11ml	22ml
Solution PW3	2×18ml	3×24ml
Solution PW4	2×18ml	3×24ml
Solution PW5	2×18ml	3×24ml
Solution PW6	5.5ml	11ml
Spin Filters	50	100
2 ml Collection Tubes	250	500

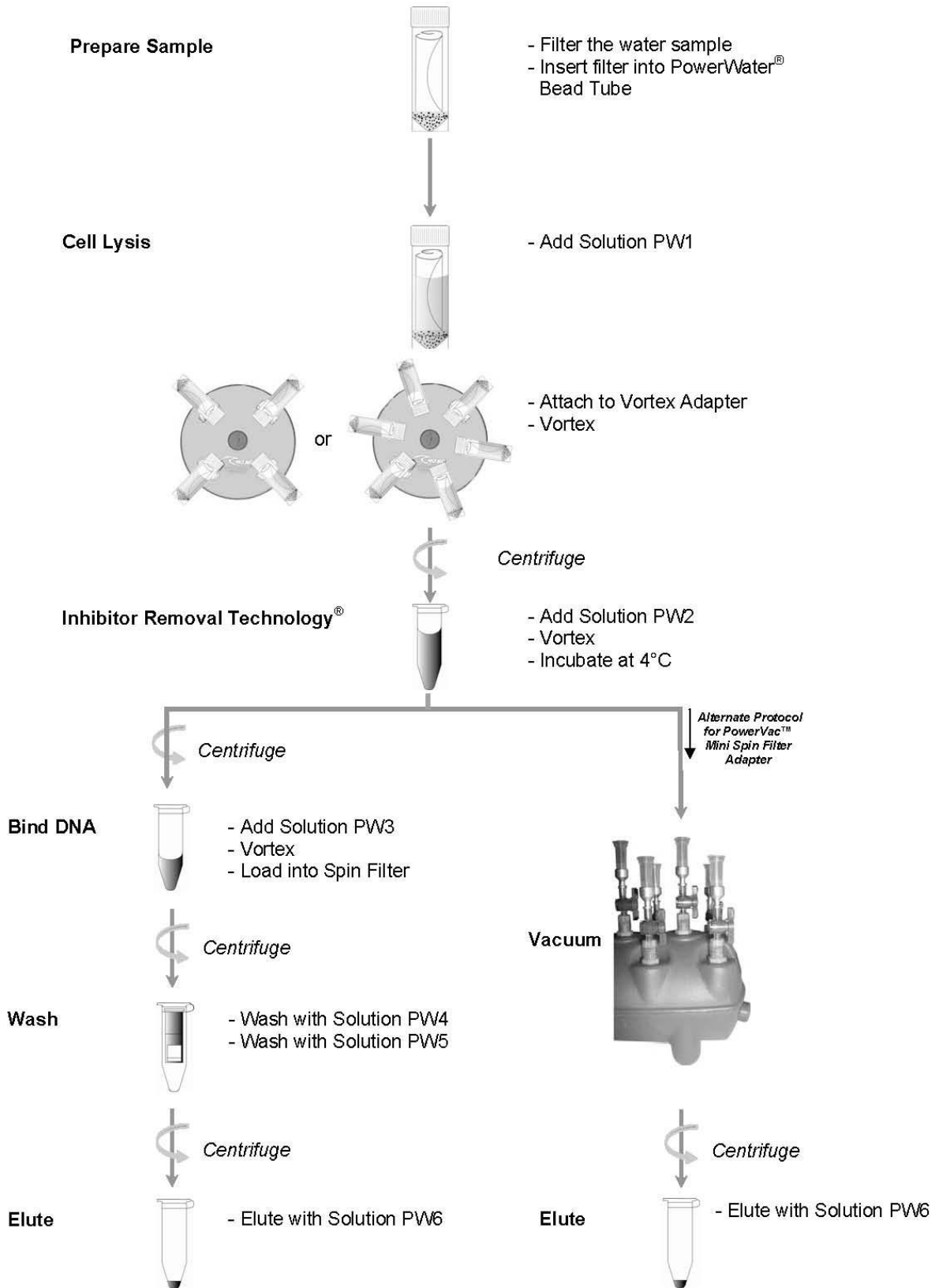
△实验前请先逐一检查试剂!

保存

组分室温 (15-30°C) 保存。



PowerWater® DNA Isolation Kit





操作步骤

PW1 溶液使用前 55°C 预热 5-10min。趁热使用。使用前检查 PW3，若有沉淀则 55°C 水浴 5-10min，可趁热使用。

1、使用离心机和一次性或可重复利用漏斗过滤水样。含 0.22 μm 或 0.45 μm 滤膜的一次性滤过漏斗可从 MO BIO 单独订购。过滤水样的体积视水样微生物丰度和浑浊程度而定。（水样类型参照附文疑难点）。

这一步发生了什么：过滤水样，微生物截留到滤膜表面及滤孔中。

2、取下过滤装置漏斗部分。

3、使用两只灭菌镊子从边缘夹起滤膜，滤膜上面朝内卷成圆筒状。

注意：不要卷太紧或折叠滤膜。“卷滤膜方法”可在以下网址观看展示视频。

<http://www.anbiosci.com/products/14900.htm>

4、把滤膜放入到 5ml **PowerWater® Bead Tube** 中。

这一步发生了什么：稍卷滤膜放入 **PowerWater® Bead Tube** 中装备珠研磨。

5、往 **PowerWater® Bead Tube** 加入 1 ml **PW1** 溶液。

注意：**PW1** 溶液使用前必须先预热溶解沉淀并趁热使用。若样品中含有难裂解微生物（真菌、海藻），可加入额外水浴步骤。详见附文疑难点。

这一步发生了什么：**PW1** 为含有去垢剂的强力裂解试剂，可破坏细胞壁，去除非 DNA 的有机、无机成分。同时也是 IRT 技术的组成之一。低温时会形成白色沉淀。55°C 水浴不会影响其成分活性。需要趁热使用。

6、把 **PowerWater® Bead Tube** 安装在 MO BIO 涡旋仪适配器，货号：13000-V1-15 或 13000-V1-5。

7、最大转速涡旋振荡 5min。

这一步发生了什么：涡旋振荡的机械作用力在打碎滤膜表面沉积物释放出截留细胞的同时辅助裂解细胞。使用涡旋仪适配器可提供相同的力矩和角度最大化研磨效果。避免使用胶带固定，以免震动过程中松脱影响研磨效果。

8、室温 $\leq 4000g$ 离心 1min。离心速度视乎离心机参数配置。（具备 15ml 离心条件可选步骤，不离心的情况会稍微减少获得上清的量）。

9、使用 1ml 枪头深入到研磨珠底部吸取上清，并转移到一个干净的 **2ml Collection Tube**（试剂盒提供）中。

注意：必须把枪头深入到研磨珠底部。多次吸取确保取出所有上清。上清中混入研磨珠不影响后续。根据使用滤膜的类型，约可获得 600-650 μl 上清。

这一步发生了什么：从滤膜和研磨珠中获得上清。

10、13000g 离心 1min。

这一步发生了什么：这一步去除混入的研磨珠、蛋白和细胞碎片。必须去除所有的非 DNA 有机、无机成分，否则将影响 DNA 纯度并抑制下游 DNA 实验。

11、避开沉淀，转移上清到一个干净的 **2ml Collection Tube**（试剂盒提供）中。



12、加入 200 μ l **PW2**，稍微涡旋混匀，4 $^{\circ}$ C 孵育 5min。

这一步发生了什么：**PW2** 溶液为 IRT 技术的又一个重要组成。第二次移除非腐植酸、细胞碎片、蛋白等非 DNA 的有机、无机成分。必须去除所有的非 DNA 有机、无机成分，否则将影响 DNA 纯度并抑制下游 DNA 实验。

13、13000g 离心 1min。

14、避开沉淀转移上清到一个干净的 **2ml Collection Tube**（试剂盒提供）中。

这一步发生了什么：进一步去除非 DNA 有机和无机物。为了确保 DNA 得率和质量，避免吸入任何沉淀物。

15、加入 650 μ l **PW3**，涡旋混匀。

注意：**PW3** 溶液若有沉淀，使用前先 55 $^{\circ}$ C 水浴 5-10min，可趁热使用。

这一步发生了什么：**PW3** 为高浓度盐溶液。DNA 在高盐条件下将选择性地吸附到离心柱硅胶滤膜上。而滤膜上非 DNA 有机无机物仍然有可能少量残留。

16、加载 650 μ l 上清到一个 **Spin Filter** 中，13000g 离心 1min。弃去滤液重复上述步骤直到过滤完所有上清。

注意：通常需要加样两次。

这一步发生了什么：DNA 选择性地吸附到离心柱硅胶滤膜上，滤液不含 DNA 成分。

17、把 **Spin Filter** 放到一个干净的 **2ml Collection Tube**（试剂盒提供）中。

这一步发生了什么：**PW3** 为高浓度盐溶液，**Spin Filter** 转移到新的 Tube 管中，等待冲洗步骤，以提高 DNA 得率和纯度。

18、**PW4** 使用前先摇匀。加入 650 μ l **PW4**，13000g 离心 1min。

这一步发生了什么：**PW4** 为含酒精冲洗液，用于冲洗离心柱滤膜上的 DNA。去除残留的盐分等杂质。

19、弃去滤液，加入 650 μ l **PW5** 溶液，13000g 离心 1min。

这一步发生了什么：**PW5** 能确保完全去除 **PW4** 成分，可提高 DNA 纯度和得率。

20、弃去滤液，13000g 离心 2min，充分甩干冲洗液。

这一步发生了什么：二次离心去除残留 **PW5** 溶液。**PW5** 溶液含酒精，必须充分去除以免影响 DNA 后续实验。

21、把 **Spin Filter** 放到一个干净的 **2ml Collection Tube**（试剂盒提供）中。

22、加入 100 μ l **PW6** 到离心柱白色滤膜中心。

这一步发生了什么：**PW6** 溶液（无菌洗脱液）加到滤膜中心湿润整个滤膜。DNA 在高盐条件选择性吸附到硅胶滤膜上，**PW6** 溶液（10mM Tris）无盐条件下选择性地洗脱下来。

可选：此步也可以用无菌的 DNA-Free PCR Grade Water（货号：17000）洗脱硅胶滤膜上的 DNA。**PW6** 溶液不含 EDTA。若为减少 DNA 降解，可用无菌 TE 溶液代替 **PW6** 洗脱 DNA。



23、13000g 离心 1min。

24、弃去离心柱。此时 DNA 可直接用于下游实验，无需进一步处理。

建议 DNA (-20℃-80℃) 保存。PW6 溶液不含 EDTA。

感谢选用 PowerWater® DNA Isolation Kit

若使用 PowerVac™ Manifold 抽吸代替离心

每个样品使用一个 Spin Filter 离心管。保持 Spin Filter 安放在 2ml Collection Tube 中知道需要真空抽吸滤过。记号笔标记标注好 Collection Tube 顶部及 Spin Filter。若 Spin Filter 在过滤过程中堵塞，仍可以改为常规离心继续提取 DNA。

此操作说明书第四步需要外自备 100% 乙醇。

1、每一个样品需要安装一个铝质 PowerVac™ Mini Spin Filter Adapter (MO BIO 货号: 11992-10 或 11992-20) 到 manifold 的鲁尔接口上。轻轻用力安紧 Spin Filter。关闭 manifold 其它所有不用的接口。

注意: 铝质 PowerVac™ Mini Spin Filter Adapters 可重复使用。

2、加载 650 μl 样品裂解物 (接上文步骤 15) 到 Spin Filter。

3、打开真空泵，打开使用的端口的阀门。打开阀门是扶稳 Spin Filter，保持直立。等待裂解物全部通过滤膜，再加 650 μl 裂解物。继续抽吸滤过。关闭阀门。

注意: 可关闭已抽滤的端口，以提高其它端口压力，加快抽滤速度。

4、加入 800 μl 100% 乙醇到 Spin Filter。扶稳 Spin Filter，打开阀门抽滤。抽滤完成后关闭阀门。

5、PW4 使用前先摇匀。每个 Spin Filter 加入 650 μl PW4，打开阀门抽滤。当所有 PW4 滤完后，继续抽滤 1min，抽干滤膜。关闭所有端口。

6、每个 Spin Filter 加入 650 μl PW5 溶液，打开鲁尔接口阀门，开启真空泵抽滤。当所有 PW5 滤完后，继续抽滤 1min。关闭所有端口。

7、关闭真空泵。打开一个未使用的端口释放 manifold 的压力。若 20 个端口都在使用，断开真空泵连接。进入下一步操作前确保真空压力已释放。必须先关闭真空泵，防止滤液倒流。

8、拿下 Spin Filter，放回到原来标记的相应 2ml Collection Tube 中。13000g 离心 2min 以充分干燥滤膜。

9、把 Spin Filter 转移到一个新的 2ml Collection Tube (试剂盒提供) 中，加入 100 μl PW6 到白色滤膜中心。可选: 可适用无菌 DNA-Free Water 洗脱 DNA (货号: 17000-10)。

10、室温 13000g 离心 1min。

11、弃去 Spin Filter。此时滤液中的 DNA 可直接用于下游实验，无需进一步处理。



疑点难点

水样类型

- A. 清亮水样:** 水样可清亮，也可非常浑浊。较干净的水可大量过滤不堵塞滤膜。可饮用水根据水的质量和颗粒数量过滤量 100ml 到 10L 不等。也有报道过滤更大体积的。
- B. 浑浊水样:** 浑浊水样有大量悬浮颗粒或者沉淀物，容易堵塞小孔径 (0.22 μm) 滤膜。这类水样建议用 0.45 μm 孔径滤膜。MO BIO 单独有提供含 0.22 μm 或 0.45 μm 滤膜一次性漏斗 (订货信息见第一页)。也可以把水样置于容器中澄清。若不具备澄清条件或不想对水样澄清，可适用孔径一大一小层叠过滤水样。下层放一小孔径滤膜，上层放一 1 μm 孔径滤膜，大滤膜截留大块碎片，小滤膜截留微生物细胞。可用双蒸水或磷酸盐缓冲液冲洗上层大孔径滤膜，以增加下沉小孔径滤膜截留的微生物数量。虽然不能 100% 有效，但也可以增加微生物 DNA 的得率。

水样滤膜选择

MO BIO 提供的含滤膜一次性漏斗可供大多数水样研究和检测使用。0.22 μm 孔径的滤膜含聚苯醚砜 (Pall Supor®)，而 0.45 μm 孔径滤膜为醋酸纤维素制成。有些类型滤膜含有或容易吸附 PCR 抑制因子。为了减少此情况的发生，使用前先做评估。

忘记预热 PW1

若忘记预热 PW1，而其它操作都正常。你仍能获得 DNA，不过得率可能比较低。

可选裂解方法

加热可辅助裂解某些类型生物体 (真菌、藻类) 以提高得率。步骤 5 后，对 PowerWater® Bead Tube 65°C 水浴 10min，步骤 6 接着继续。

没有 15ml 管离心机满足步骤 8 中的 5ml Tube 管离心

离心可帮助增加从滤膜中分离到的上清量。若没办法给 5ml 管离心，步骤 8 可忽略，上清获取量减少。

A260/230 数值偏低

A260/230 读数只反映 DNA 纯度。低微生物丰度的样品，DNA 得率 (20ng/ μl) 也低，其比率可能低于 1.5。该比率并不能反映 DNA 样品的可扩增性或 DNA 完整性。酒精浓缩法把 DNA 浓缩成更高浓度有助于提高 A260/230 比值。

DNA 预期得率

根据水样类型、采样地点，甚至季节，DNA 得率都可能差异很大。下表给出了得率参考值。基于样品的多



ANBIOSCI TECH LTD

样性，下列数值仅供参考。

水样类型	水样滤过体积	DNA 得率 (ng/μl)
咸水海湾	100ml	40-72
淡水湖	100ml	15-25
泻湖	20-100ml	3-38
海水（沿海）	100ml	3-11
下水道支流	50ml	95
经处理污水	50ml	18

深圳市安必胜科技有限公司

更多实用技巧请参阅 <http://www.anbiosci.com/MBweibo/blog.htm>