土壤 DNA 纯化试剂盒说明书

产品组成

土壤 DNA 纯化试剂盒 Cat. No.	5 次制备 4102005	50 次制备 4102050
2 ml 样品管	5 套	50 套
核酸纯化柱	5 套	50 套
蛋白酶 K 贮存液	120 µl	1.2 ml
Buffer PD	6 ml	55 ml
Buffer ST	1.2 ml	12 ml
Buffer TE	2 ml	25 ml
Buffer P	3 ml	28 ml
Buffer WB（浓缩液）	1.5 ml	10 ml
说明书	1 份	1 份

产品储存

1. 蛋白酶 K 贮存液请于 - 20℃储存。
2. 其他试剂与物品如果储存于常温（0~30℃），可在两年内保持使用性能无明显变化；如果将产品储存于 2~8℃，可延长产品的有效期至两年以上（2~8℃储存的产品使用前应先恢复到室温后再使用）。

技术支持

杭州新景生物试剂开发有限公司研发部：e-mail: technical@simgen.cn, 电话：400-0099-857。

产品介绍

本产品适合从 500 mg 新鲜的或者是冷冻贮藏的土壤中分离总 DNA。被溶解的土壤中的各种微生物的总 DNA 均可结合到核酸纯化柱上，降解的蛋白与腐殖酸等 PCR 抑制物则被过滤除去，基因组 DNA 经 Buffer WB 洗涤后，用 Buffer TE 洗脱，即可用于各种分子生物学实验。

用户需自备的试剂与物品

1. 去离子纯水、无水乙醇与异丙醇
2. 1.5 ml 离心管和 2 ml 离心管。
3. 移液器吸头（为避免样品间的污染，请选用含有滤芯的移液器吸头）
4. 一次性手套及防护用品和纸巾
5. 台式小量离心机（可配离心 1.5 ml 离心管和 2 ml 离心管的转子）
6. 样品匀质仪、水浴锅和旋涡振荡器

使用前准备

1. 如果离心机有制冷功能，请将温度设置到 25℃。
2. 将水浴锅温度设置到 70℃，并将 Buffer PD、Buffer ST 和 Buffer TE 在 70℃温育。
3. 根据试剂瓶标签上的指示在 Buffer WB 中加入无水乙醇，并在标签的方框中打勾作好“乙醇已加”的标记。

操作步骤：

1. **称取少于500 mg土壤，加入到2 ml样品管中。加入1 ml Buffer PD，旋紧管盖，放入样品匀质仪中，最高速处理30秒；如果没有样品匀质仪，则在旋涡振荡器上剧烈旋涡振荡3分钟。**

   * 如果使用冻干的土壤粉末，应再补加100 µl去离子纯水以便于土壤颗粒的悬浮。

2. **加入20 µl蛋白酶K贮存液，盖上管盖混匀，70°C水浴15分钟。水浴期间每隔5分钟剧烈旋涡振荡30秒。**
3. **加入200 µl Buffer ST，剧烈旋涡振荡30秒混匀，13000 rpm离心10分钟。**
4. **吸取上清（约1 ml左右）转移到另一个洁净的有盖2 ml离心管(用户自备)中。**
5. **加入800 µl异丙醇，温和地翻转4~6次混和均匀。13000 rpm离心10分钟。**
6. **弃上清，3000 rpm离心5-10秒使残留的上清液聚集到离心管底部。用移液器吸尽残留的上清液，保留管底沉淀。**
7. **加入100 µl 70℃温育的Buffer TE，旋涡振荡直至沉淀全部溶解。**
8. **加入500 µl Buffer P，温和地翻转4~6次混和均匀。吸取混合液加入到核酸纯化柱中，盖上管盖，12000 rpm离心30秒。**
9. **弃2 ml离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到2 ml离心管中，在核酸纯化柱中加入600 µl Buffer WB，盖上管盖，12000 rpm离心30秒。**

   * 滤液无须彻底弃尽，如果要避免粘附在离心管管口的滤液对离心机的污染，可将 2 ml 离心管在纸巾上倒扣拍击一次。
   * 确认在Buffer WB中已经加入无水乙醇。

10. **弃2 ml离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到2 ml离心管中，14000 rpm离心1分钟。**

    * 如果离心机的离心速度达不到 14000 rpm，则用最高速离心 2 分钟。
    * 请勿省略该步骤，否则可能因所纯化的核酸中混有乙醇而影响后续的PCR效果。

11. **弃2 ml离心管，将核酸纯化柱置于一个洁净的1.5 ml离心管中，在纯化柱的膜中央加入100~200 µl 70℃温育的Buffer TE，盖上管盖，室温静置1分钟，12000 rpm离心30秒。**

    * 如果离心机没有防泄漏的盖子，请将离心条件改为 8000 rpm 离心 1 分钟，以免 1.5 ml 离心管管盖脱落而损伤离心机。

12. **弃纯化柱，洗脱的DNA可立即用于各种分子生物学实验；或者将DNA储存于－20℃备用。**

    * 用作 PCR 扩增时，作为模板的 DNA 不应超过终反应体积的 1/10（比如终反应体积为 50 µl，则 DNA 加入量不应超过 5 µl）。