

土壤 DNA 纯化试剂盒说明书

产品组成

土壤 DNA 纯化试剂盒	5 次制备	50 次制备	250 次制备
Cat. No.	4102005	4102050	4102250
2 ml 样品管	5 套	50 套	250 套
核酸纯化柱	5 套	50 套	250 套
蛋白酶 K 贮存液	120 µl	1.2 ml	1.2 ml×5
Buffer PD	6 ml	55 ml	260 ml
Buffer ST	1.2 ml	12 ml	60 ml
Buffer TE	2 ml	20 ml	100 ml
Buffer P	3 ml	28 ml	140 ml
Buffer WB（浓缩液）	1.5 ml	10 ml	50 ml
说明书	1 份	1 份	1 份

产品储存

蛋白酶 K 贮存液可室温运输，收到后请置于 -20℃ 储存，其他试剂与物品储存于常温（0~30℃），可在两年内保持使用性能无明显变化。

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. 无水乙醇和异丙醇，可能需要去离子纯水
2. 1.5 ml 离心管和 2 ml 离心管。
3. 移液器及吸头（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。

注意：当室温低于 15℃ 时，Buffer PD 和 Buffer ST 可能会有沉淀析出，温育后请仔细观察沉淀是否完全溶解，并颠倒混匀后再使用。

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做好“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 μ l 去离子纯水以便于土壤颗粒的悬浮。

2. 加入 20 μ l 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 μ l 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）到一个洁净的有盖 2 ml 离心管(用户自备)中。
5. 加入 800 μ l 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 μ l 70°C 温育的 Buffer TE，旋涡振荡直至沉淀全部溶解。
8. 加入 500 μ l Buffer P 并直接用吸头吹打 6~8 次混合均匀。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 μ l 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 μ l 70°C 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°C 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 μ l，则 DNA 加入量不应超过 5 μ l）。