



Creativity & Innovation

土壤、粪便基因组DNA 小量提取试剂盒 (离心柱型)

广州艾基生物技术有限公司

土壤、粪便基因组DNA少量提取试剂盒

【产品简介】

本试剂盒是专门为土壤、粪便DNA提取而设计的。试剂盒采用硅胶柱纯化技术，并结合独创的腐殖酸吸附剂技术，适合于从各种土壤、粪便，如森林土壤，草地土壤，矿区土壤，底泥以及各种粪便，如小鼠粪便、人粪便、狗、猫等粪便；从此类样品中提取高产量高纯度的总DNA。腐殖酸吸附剂可高效地吸附土壤样品中的腐殖酸和其他抑制因子，纯化的DNA可直接用于PCR、酶切，Southern杂交等实验。

产品编号	提取次数
K3115-S	50
K3115-L	100

【原理】

硅胶柱是采用高结合力的玻璃纤维滤膜为基质。滤膜在高浓度离子化剂（如盐酸胍或异硫氰酸胍）条件下，可通过氢键和静电等物理因素吸附核酸，而蛋白质或其它杂质不被吸附而去除。吸附了核酸的滤膜经洗涤去除蛋白质和盐，最后可以用低盐缓冲液（如Buffer TE）或水，洗脱出滤膜上吸附的核酸。得到的核酸纯度高，可直接用于各种下游实验。此外，C3溶液是IGE独创的腐殖酸吸附剂，该吸附剂可选择性吸附DNA样品中的腐殖酸等抑制因子，提高DNA纯度。

土壤样品在含二氧化锆研磨珠的裂解液中匀浆裂解，高温水浴进一步裂解细菌，DNA释放到裂解液中。离心去除土壤杂质，加入C2溶液去除蛋白质和腐植酸等杂质，加入异丙醇沉淀回收核酸，用C6溶液溶解得到粗制DNA；粗制DNA经C3溶液吸附腐殖酸后，过柱子进一步纯化，最后DNA被C6溶液洗脱。洗脱的DNA可直接用于PCR、Southern杂交、酶切等实验。

土壤、粪便基因组DNA少量提取试剂盒

一、试剂盒组成，储存条件

试剂盒组成	K3115-S	K3115-L	储存条件
纯化次数	50次	100次	
Bead Solution	50ml	100ml	常温储存
C1溶液	4ml	8ml	常温储存
C2溶液	15ml	30ml	常温储存
C3溶液	12ml	24ml	常温储存
C4溶液	70ml	140ml	常温储存
C5溶液	36ml	72ml	常温储存
C6溶液	12ml	24ml	常温储存
C7溶液	5ml	10ml	常温储存
锆beads	30g	60g	常温储存
离心柱	50个	100个	常温储存
说明书	1份	1份	常温储存

▲ 实验前请先逐一检查试剂！

本试剂盒在常温下干燥保存12个月不影响使用效果。长期保存时需放置2-8°C。低温时，C1溶液可能会有沉淀形成，55°C水浴让沉淀完全溶解。

土壤、粪便基因组DNA小量提取试剂盒

二、实验前准备

实验前请准备好水浴锅或金属浴、涡旋振荡、器掌心离心机、涡旋仪或珠磨仪、1.5ml、2ml离心管等试剂盒内没有提供的设备和耗材。

按标签所示，向C5、C6瓶内加入相对应量的无水乙醇，混匀后备用。

	K3115-S	K3115-L
C5溶液	36ml	72ml
无水乙醇	24ml	48ml

	K3115-S	K3115-L
C6溶液	12ml	24ml
无水乙醇	48ml	96ml

二、操作步骤（离心法）

该方案适合于从 $\leq 0.5\text{g}$ 土壤、粪便样品中快速提取高纯度的总DNA

1、土壤、粪便的匀浆裂解（根据实际情况选择）

实验前，请准备好n个（样品数=N）2mL的离心管，用分析天平称取0.5g铅beads装入n个2mL的离心管中，然后按照如下方案进行提取。

手工涡旋：加入0.25-0.5g土壤样品（或黄豆大小粪渣）到EP管中，加入750 μl beads solution，再加入60 μl C1溶液，涡旋或颠倒混匀，在涡旋仪上最高速度间断涡旋5 - 10min；按第2步进行操作。

珠磨仪：加入0.25-0.5g土壤样本（或黄豆大小粪渣）到EP管中，加入750 μl beads solution和60 μl C1溶液，在珠磨仪上进行匀浆。不同的珠磨仪因功率不一样，应根据仪器进行调整。混匀后，按第2步进行操作

推荐用珠磨仪如FastPrep-24®来匀浆土壤样品，珠磨仪能量高，短时间匀浆就能达到效果可减少DNA断裂。用涡旋仪涡旋匀浆土壤时，因效率低，时间长，对DNA完整性和产量方面都会有影响。若样品中含水分量很多，可先离心去除水分后再进行操作。

土壤、粪便基因组DNA小量提取试剂盒

保存液保存的粪便样品：用涡旋震荡器将粪便保存管进行涡旋震荡混匀，用移液器（可剪去tip头部，避免粪渣堵塞tip头）吸取250 μ l上清；加入750 μ l beads solution 和60 μ l C1溶液至样品中，涡旋混匀60s，按第3步进行操作。

- 2、室温12000xg离心2 min，转移400-500 μ l上清至2ml 离心管中；
- 3、加入250 μ l的C2溶液至裂解液中，涡旋混匀5S，2 - 8 $^{\circ}$ C 孵育5 min；室温12000xg离心2 min，转移600 μ l上清至新的离心管中。
- 4、加入200 μ l C3溶液至裂解液中，涡旋混匀，2 - 8 $^{\circ}$ C孵育5min；
- 5、室温12000xg，离心2 min；转移上清750ul至一新的2ml EP管中；
- 6、加入1400 μ l C4溶液，颠倒混匀；
- 7、把DNA柱装在收集管中。转移一半混合液柱子中，室温12000xg离心1min；
- 8、倒弃滤液把柱子装回收集管。把剩余混合液转移至柱子中，室温12000xg离心1min；
- 9、倒弃滤液，把柱子装回收集管中。再加入500 μ l C5溶液至柱子上，室温12000xg离心1min；
- 10、倒弃滤液，把柱子装回收集管中。再加入500 μ l C6溶液至柱子上，室温12000xg离心1min；
- 11、倒弃滤液，把柱子装回收集管中，室温12000xg离心3min；
- 12、将柱子装在1.5ml离心管中。加入50 - 100 μ l预热至70 $^{\circ}$ C C7溶液至柱子的膜中央。放置5min，室温12000xg离心1min；
- 13、若纯化的DNA需要长期保存，建议用C7来洗脱DNA。若需获得的最高产量，建议进行第二、第三次洗脱。
- 14、丢弃DNA离心柱，把DNA保存于2-8 $^{\circ}$ C，长期保存需保存于-20 $^{\circ}$ C。

土壤、粪便基因组DNA小量提取试剂盒

常见问题解答

该列表可能有利于解决提取过程中所碰到的问题。我们的技术人员也可以随时为您提供服务，若您对试剂盒存在问题或建议，或您在分子生物学碰到问题，都请您联系我们。我们将竭尽所能为您排忧解难。

现象	原因及解决方法
DNA有颜色	
样品用量太多	森林土壤或草地土壤富含腐殖酸，土壤用量减少一半。
加入C2溶液后没有充分混匀	加入C2溶液后要充分涡旋混匀，以充分去除杂质
DNA降解严重	
土壤样品富含核酸酶或二价金属离子	省略70°C或90°C水浴加热的步骤。底泥或富含水份的土壤尽量去除后再进行操作。
用珠磨仪代替手工涡旋	手工涡旋时间长，会造成DNA的断裂
样品用量太多	森林土壤和草地土壤富含腐殖酸，土壤用量减少一半
DNA产量低	
土壤DNA含量低	土壤样品核酸含量低，采用难提取方案进行抽提
裂解不充分	用珠磨仪来代替手工涡旋。或手工涡旋时把涡旋仪速度调到最高，不间断充分涡旋5-10min。
洗脱效率不够	增加洗脱体积和洗脱次数。由于基因组DNA片段大，水溶性较差。建议进行第三次洗脱以提高产量或提高洗脱液的体积。

土壤、粪便基因组DNA小量提取试剂盒

现象	原因及解决方法
DNA产量低	
C5溶液中乙醇没有加入或加入量不够	按照说明书或者瓶子标签所示，加入适量的无水乙醇至C5溶液中。
C4溶液加入体积不准	得到上清后，加入1000ul的C4溶液。
RNA污染	
延长RNASE消化时间	加入RNase A至裂解液中消化去除RNA污染
OD260/280或OD260/230比值不正常	
RNA污染	加入RNase A至裂解液中消化去除RNA污染
核酸浓度太低	核酸浓度很低时，OD比值偏差较大



广州艾基生物技术有限公司



广州国际生物岛螺旋三路12号三期四栋301

020-89053723

www.igebio.com