

For research use only

Version Number: 1.1

Soil DNA Isolation Kit

For genomic DNA purification from various soil samples as sludge, sandy soil, green garden, lawn grass, soil under palm tree and so on

试剂盒组成	DE-05513
	50 T
Buffer SG1 *	30 mL
Buffer SG2	2.5 mL
Buffer SG3 *	30 mL
Buffer SG4	1 mL
Buffer PW *	25 mL
Buffer WB	25 mL
Buffer EB	10 mL
Buffer TE	55 mL
Foregene Protease	1.25 mL × 2
Lysozyme	500 mg
DNA-Only Column	50 套
说明书	1 份

*: Buffer SG2、SG3、Buffer PW 中含有具刺激性的离液盐，操作时请注意戴上手套和进行相关防护措施。

产品简介

本试剂盒提供了从各种来源的土壤中快速简便的提取基因组 DNA 的方法。土壤样品中存在大量的抑制因子如腐殖酸、金属离子等，这些物质即使微量存在于纯化后的 DNA 中也会对下游反应，如对 PCR、限制性酶切等产生影响。因而纯化土壤 DNA 的关键在于如何有效的去除土壤中的抑制因子。

本试剂盒采用可以特异性结合 DNA 的 DNA-Only Column、全新的 Foregene Protease 以及独特的缓冲液体系，可以有效的去除土壤中各种抑制因子，无需有机溶剂抽提或乙醇及异丙醇沉淀，在 90 分钟内即可完成对土壤样品中 DNA 的提取操作。

储存条件

- ❖ 本试剂盒在常温(15-25°C)干燥条件下，可保存 24 个月；如需保存更长时间可置于 2-8°C。
注意：若低温保存，溶液容易产生沉淀。在使用前务必将试剂盒内的溶液在室温中放置一段时间，必要时可在 37°C 水浴中预热 10 分钟，以溶解沉淀，混匀后再使用。
- ❖ Foregene Protease 溶液具有独特配方，常温保存长期(3 个月)具有活性；在 4°C 保存，其活性和稳定性会更好，因此建议将其置于 4°C 保存，切记不能置于 -20°C 保存。
- ❖ 干粉 Lysozyme -20°C 保存；配制好的 Lysozyme 溶液分成小份 -20°C 保存。

注意事项：(请务必在使用试剂盒前仔细阅读注意事项)

- ❖ 每个土壤样本单次基因组 DNA 提取不宜超过 500 mg。
- ❖ 使用前，仔细检查 Buffer SG2、Buffer SG3、Buffer SG4 和 Buffer PW 中是否有沉淀析出，若有沉淀析出，请将其置于 37°C 溶解，混匀后再使用。
- ❖ 试剂盒使用前，请务必检查 Buffer WB 是否按说明添加了无水乙醇。Buffer WB 在使用前添加 60 mL 无水乙醇(DE-05513)。
- ❖ 在样品裂解过程中，应始终保持样品浸于裂解缓冲液中，若样品黏附在管盖及内壁，可通过短暂离心进行处理。
- ❖ 洗脱体积： Buffer EB 不应少于 100 μ L，否则会影响 DNA 产量。
- ❖ 切记不要在任何 Buffer 中添加 RNA 酶。
- ❖ 所有离心步骤均为使用台式离心机常温(15-25°C)离心。
- ❖ 所有实验步骤均在常温(15-25°C)进行。

Lysozyme 溶液配制

使用前，Lysozyme 配制成浓度为 100 mg/mL 的溶液。避免反复冻融，分装成小份后于 -20°C 保存。使用前，将 Lysozyme 溶液在室温下溶解，每个样品用量为 100 μ L。

操作步骤 (请严格按照本操作说明进行相关实验操作)

使用前请先在 Buffer WB 中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶上的标签。

1. 称取 500 mg 土壤样品，置于 2 mL 离心管中。

注意：如果样本是悬浊液，可 13,300 rpm(17,000 \times g)离心 1 min，收集沉淀后再称取 500 mg。

- 向离心管中加入 **1 mL Buffer TE**、**100 μ L Lysozyme** 充分混匀后, 37°C摇床温浴 30 min(转速: 180 rpm/min)。
- 7,200 rpm(\sim 5,000 \times g)离心 5 min, 用移液器吸除上清。
注意: 应尽量吸净残留上清, 以免影响后续操作。
- 向留有沉淀的离心管中加入 **600 μ L Buffer SG1**, 上下颠倒充分混匀, 加入 **50 μ L Foregene Protease**, **50 μ L Buffer SG2**, 涡旋充分混匀。
注意: 使用前请检查 Buffer SG2 是否有沉淀产生, 如有沉淀产生, 请将溶液置于 37°C温育, 直至沉淀溶解后使用。
- 将离心管置于 65°C水浴或金属浴 30 min, 其间每隔 10 min 上下颠倒充分混匀一次。
- 向离心管中加入 **600 μ L Buffer SG3**, 上下颠倒充分混匀, 置于 65°C水浴或金属浴 10 min, 其间每隔 4 min 上下颠倒充分混匀一次。
- 12,000 rpm(\sim 13,400 \times g)离心 5 min, 用移液器将上清液转移至新的 2 mL 离心管中, 应避免吸到沉淀。
- 向离心管中加入 **20 μ L Buffer SG4**, **280 μ L 乙醇**(95-100%)涡旋充分混匀 10 sec, 可以瞬时离心收集附着在管盖和管壁的液滴。
- 将离心柱放入收集管中, 取 800 μ L 混合液加入离心柱(DNA-Only Column)中, 12,000 rpm(\sim 13,400 \times g), 离心 1 min。
- 倒掉收集管中废液, 将离心柱放回收集管中, 将剩余混合液全部加入离心柱中, 12,000 rpm(\sim 13,400 \times g), 离心 1 min。
- 倒掉收集管中的废液, 将离心柱放回收集管中, 向离心柱中加入 **500 μ L Buffer PW**, 12,000 rpm(\sim 13,400 \times g), 离心 1 min。
- 倒掉收集管中的废液, 将离心柱放回收集管中, 向离心柱中加入 **700 μ L Buffer WB**, 12,000 rpm(\sim 13,400 \times g), 离心 1 min。
- 重复步骤 12 一次。
- 倒掉收集管中的废液, 将离心柱放回收集管中, 12,000 rpm(\sim 13,400 \times g)离心 2 min。
- 将离心柱转移至新的 1.5 mL 离心管中, 向膜中央悬空滴加 **100 μ L** 已于 65°C预热的 **Buffer EB**(切勿将洗脱液添加到压圈上, 否则会损失较大体积的洗脱液), 室温放置 5 min, 12,000 rpm(\sim 13,400 \times g) 离心 1 min。再次向膜中央悬空滴加 **100 μ L** 已预热的 **Buffer EB**, 12,000 rpm(\sim 13,400 \times g) 离心 1 min。将两次收集的洗脱液合并。
注意: 如果希望提高 DNA 的浓度, 可将第 1 次离心得到的溶液重新加回离心柱中, 12,000 rpm(\sim 13,400 \times g) 离心 1 min。

