

A&DSim 土壤 DNA 纯化试剂盒说明书

产品组成

A&DSim 土壤 DNA 纯化试剂盒	5 次样品	50 次制备
Cat. No.	A-4102005	A-4102050
核酸纯化柱	5 个	50 个
2 ml 离心管	5 个	50 个
2 ml 样品管	5 个	50 个
蛋白酶 K 贮存液	120 μ l	1.2 ml
Buffer ST	4 ml	32 ml
Buffer IS（浓缩液）	1.2 ml	11 ml
Buffer TE	2 ml	25 ml
Buffer SL	6 ml	55 ml
Buffer WB（浓缩液）	1.5 ml	9.5 ml
说明书	1 份	1 份

产品储存

1. 蛋白酶 K 贮存液请置于-20℃贮存。
2. 其他试剂与物品如果储存于室温（15~25℃），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产品恢复到室温后再使用）。

技术支持

艾德科技（北京）有限公司研发部：e-mail: tech@aderr.com 电话：010-57225208。

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 SL 和 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. 1.5ml 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. 台式少量离心机（可配离心 1.5ml 离心管和 2ml 离心管的转子）
6. 样品匀质仪、水浴锅和旋涡震荡器

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 37℃ 和 70℃，并将 Buffer ST 和 Buffer TE 在 70℃ 温育。
- 3) 根据试剂瓶标签上的指示在 Buffer IS 中加入异丙醇，在 Buffer WB 中加入无水乙醇，并在标签的方框中打勾作好“异丙醇/乙醇已加”的标记。

操作步骤：

1. 用2 ml样品管称取少于500 mg土壤，加入600 μ l 去离子纯水，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，则在漩涡振荡器上剧烈旋涡振荡3分钟。

* 如果使用冻干的土壤，应补加补加100 μ l去离子纯水以便于土壤颗粒的悬浮。

2. 加入600 μ l Buffer ST，再加入20 μ l蛋白酶K贮存液，盖上管盖混匀，70 $^{\circ}$ C水浴15分钟。水浴期间每隔5分钟剧烈旋涡振荡30秒。

3. 13000 rpm 离心10分钟。吸取少于800 μ l上清（如上清大于800 μ l，则吸取800 μ l离心上清）并转移到另一个洁净的2 ml离心管（用户自备）中。

4. 加入1.25倍体积已加入异丙醇的Buffer IS，温和地翻转4-6次混和均匀。13000 rpm 离心2分钟。

* 比如在800 μ l上清中，应加入1000 μ l已加入异丙醇的Buffer IS。

5. 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。

6. 加入100 μ l 70 $^{\circ}$ C温育的Buffer TE，漩涡振荡直至沉淀全部溶解。

7. 加入500 μ l Buffer SL，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（核酸纯化柱置于2ml离心管中），盖上管盖，12000 rpm 离心30秒。

8. 弃2ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到2ml 离心管中，在核酸纯化柱中加入500 μ l Buffer SL，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2ml 离心管在纸巾上倒扣拍击一次。

9. 弃2ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到2ml 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。

* 确认在Buffer WB中已经加入无水乙醇。

10. 弃2ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到2ml 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2ml 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 $^{\circ}$ 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1.5ml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 $^{\circ}$ 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）。