

版本号: DP140311

TIANamp Soil DNA Kit

土壤基因组DNA提取试剂盒

(离心柱型)

目录号: DP336

产品内容

产品组成	DP336-02 (50 preps)
缓冲液SA (Buffer SA)	45 ml
缓冲液SC (Buffer SC)	5 ml
缓冲液HA (Buffer HA)	15 ml
缓冲液HB (Buffer HB)	15 ml
缓冲液GF (Buffer GF)	70 ml
漂洗液PWS (Buffer PWS)	15 ml
玻璃珠 (Glass Beads)	15 g
洗脱缓冲液TE (Buffer TE)	15 ml
吸附柱CB3 (Spin Columns CB3)	50个
收集管 (2 ml) (Collection Tubes 2 ml)	50个

储存条件

该试剂盒置于室温 (15-25°C) 干燥条件下可保存12个月; 更长时间的保存可置于2-8°C。在2-8°C保存条件下, 若产生沉淀, 使用前应先 will 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 min, 以溶解沉淀。

产品简介

本试剂盒采用独特的脱腐缓冲液系统，可以将土壤样本中的腐殖酸尽可能的去除，并且配有的玻璃珠可有效破碎土壤样本中的各种复杂成分，保证从土壤中提取基因组DNA的完整性。

使用本试剂盒回收的DNA杂质少，完整性好，可直接用于PCR、酶切等其它分子生物学下游实验。

产品特点

适用范围：适用于花坛土、花盆土、农田土、山林土、淤泥、红土、黑土、粉尘等多类土壤环境样本的提取。

操作便捷：能够集中在相对较短时间内完成实验操作。

高纯度：与离心柱法纯化相结合，提取的DNA纯度很高，可直接用于下游实验。

注意事项 请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项。

1. 新采取的土壤样本会得到更高的产率，不同样本在采样前应先查阅相应的最佳保存条件。
 2. 所有的离心步骤均为使用台式离心机，室温下离心。
 3. 在需要吸取上清液的步骤中应避免吸到沉淀，否则会堵塞吸附柱，并影响产物纯度。
 4. 漂洗液PWS使用前请参照瓶上标签加入无水乙醇。
 5. 过量的DNA可能抑制下游PCR反应，遇到这种情况建议将DNA模板进行稀释后试用。
-

操作步骤

使用前请先在漂洗液PWS中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶上的标签。

1. 取750 μl 缓冲液SA和0.25 g玻璃珠至2 ml离心管中。
2. 在上述2 ml离心管中加入土壤样本0.25 g，涡旋混匀15 sec。
3. 向样本中加入60 μl 缓冲液SC，涡旋振荡10 min至样本混匀。

注意：使用前检查缓冲液SC是否有沉淀，若有沉淀，请在37°C加热至完全溶解后使用。

4. 12,000 rpm ($\sim 13,400 \times g$) 离心1 min。转移上清液(约500 μl) 至新的2 ml离心管。
5. 加入250 μl 缓冲液HA，涡旋5 sec，4°C放置5 min。
6. 12,000 rpm ($\sim 13,400 \times g$) 离心1 min。转移上清至新的2 ml离心管，加入200 μl 缓冲液HB混匀，4°C放置5 min。

注意：转移上清时不要移走沉淀，否则可能降低DNA纯度。

7. 12,000 rpm ($\sim 13,400 \times g$) 离心1 min。转移上清液至新的2 ml离心管，加入1200 μl 缓冲液GF颠倒混匀。

注意：转移上清时不要移走沉淀，否则可能降低DNA纯度。

8. 取上一步所得溶液700 μl 加入到一个吸附柱CB3中(吸附柱放入收集管中)，12,000 rpm ($\sim 13,400 \times g$) 离心30 sec，倒掉废液，将吸附柱CB3放入收集管中。

注意：吸附柱最大容量为700 μl ，请分多次过柱。

9. 向吸附柱CB3中加入500 μl 漂洗液PWS(用前请加入无水乙醇)，12,000 rpm ($\sim 13,400 \times g$) 离心30 sec，倒掉废液，将吸附柱CB3放入收集管中。

10. 向吸附柱CB3中加入500 μl 70%乙醇，12,000 rpm ($\sim 13,400 \times g$) 离心30 sec，倒掉废液，将吸附柱CB3放入收集管中。

11. 12,000 rpm ($\sim 13,400 \times g$) 离心2 min，倒掉废液。

12. 将吸附柱CB3置于室温放置数分钟，以彻底晾干吸附材料中残余的漂洗液。将吸附柱CB3转入一个干净的离心管中，向吸附膜的中间部位悬空滴加50-100 μl 洗脱缓冲液TE，室温放置2-5 min，12,000 rpm ($\sim 13,400 \times g$) 离心2 min，将溶液收集到离心管中。

注意：为增加基因组DNA的得率，可将离心得到的溶液再加入吸附柱CB3中，室温放置2 min，12,000 rpm (~13,400×g)离心2 min。洗脱液的pH值对于洗脱效率有很大影响。若用水做洗脱液应保证其pH值在7.0-8.5范围内，pH值低于7.0会降低洗脱效率；且DNA产物应保存在-20℃，以防DNA降解。

DNA浓度及纯度检测

得到的基因组DNA片段的大小与样品保存时间、操作过程中的剪切力等因素有关。回收得到的DNA片段可用琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计检测浓度与纯度。

DNA应在OD260处有显著吸收峰，OD260值为1相当于大约50 µg/ml双链DNA、40 µg/ml单链DNA。

OD260/OD280比值应为1.7-1.9，如果洗脱时不使用洗脱缓冲液，而使用ddH₂O，比值会偏低，因为pH值和离子存在会影响光吸收值，但并不表示纯度低。
