

## DNA Kit for Stool and Soil

## 强力粪便/土壤基因组 DNA 提取试剂盒

目录号: DHYC75

## 试剂盒组成

Component	DHYC75 (50 preps)
Buffer ATS-N	50 ml
12% SDS	10 ml
Buffer SP2	10 ml
Buffer PN	15 ml
Buffer WB1	25 ml
Buffer WB2	13 ml
	使用前按标签加入无水乙醇
Buffer EB	10 ml
1.4 mm 研磨珠	30 g
Spin Columns AC with Collection Tubes	50

## 保存方法

室温 (15-30°C) 保存。

## 产品介绍

本试剂盒采用可以特异性结合 DNA 的离心吸附柱和独特缓冲液系统提取复杂土壤/粪便/发酵物样本的基因组 DNA。独特抑制物清除剂可以有效去除样品中的杂质。提取的基因组 DNA 片段大, 纯度高, 质量稳定可靠。使用本试剂盒回收的 DNA 可直接用于 PCR 等分子生物学下游实验。

## 注意事项

1. 样品应避免反复冻融, 否则会导致提取的 DNA 片段较小且提取量也下降。
2. 环境温度低时 12% SDS 缓冲液会析出沉淀, 可水浴加热重新溶解, 轻轻摇匀后使用。
3. 充分混匀样品, 如果样品混匀不充分可能影响裂解效率, 最终影响得率和比值。

- 
4. 所有离心步骤均在室温下进行。
  5. 第一次使用前请先在 **Buffer WB2** 瓶加入指定量无水乙醇，混匀后请及时在方框内打钩标记，以免重复加入！
  6. **Buffer EB** 中不含有螯合剂 **EDTA** 成分，不影响下游酶切、连接等反应。也可以使用水洗脱，但应该确保 **pH** 在 **7.5-8.5** 之间，**pH** 过低影响洗脱效率。

### 操作步骤（以下所有离心步骤均在室温下进行）

1. 取 **0.2-0.4 g** 土壤/粪便/发酵物至 **2 ml** 离心管，加入 **0.5 g** 研磨珠。  
注意：如果是液态样本则转移 **200  $\mu$ l** 至离心管中。
2. 加入 **840  $\mu$ l Buffer ATS-N** 和 **168  $\mu$ l 12% SDS**，上下颠倒混匀，使用组织研磨仪研磨 **45 s**。  
注意：使用前检查 **12% SDS** 是否有沉淀，若有沉淀，请水浴加热至完全溶解后使用。
3. **70 $^{\circ}$ C** 水浴 **10 min**，其间振荡混匀一次。
4. **12000 rpm**（ $\sim$ **13400 g**）离心 **10 min**。吸取上清液（ $\leq$ **500  $\mu$ l**）至新的离心管。
5. 加入 **160  $\mu$ l Buffer SP2**，涡旋混匀，**4 $^{\circ}$ C** 孵育 **5 min**。**12000 rpm** 离心 **3 min**，转移上清液（ $\leq$ **600  $\mu$ l**）至新的离心管。  
注意：离心后微量杂质会附着在管底或管内壁，吸取上清时避开微小沉淀。
6. 加入 **200  $\mu$ l Buffer PN**，涡旋混匀，**4 $^{\circ}$ C** 孵育 **5 min**。**12000 rpm** 离心 **1 min**，转移上清液至新的离心管。
7. 加入 **0.5 倍** 上清体积的异丙醇，涡旋混匀，将得到的溶液分两次转入已装入收集管的吸附柱（**Spin Columns AC**）中，**12000 rpm** 离心 **30 sec**，倒掉收集管中的废液。
8. 向吸附柱 **AC** 中加入 **500  $\mu$ l Buffer WB1**，**12,000 rpm** 离心 **30 sec**，倒掉废液。
9. 向吸附柱 **AC** 中加入 **600  $\mu$ l Buffer WB2**（使用前请确认是否已加入无水乙醇！），**12,000 rpm** 离心 **30 sec**，倒掉废液。
10. 重复步骤 9。
11. 将吸附柱 **AC** 放回空收集管中，**12,000 rpm** 离心 **2 min**，弃掉收集管和废液。  
注意：这一步的目的是将吸附柱中残余的乙醇去除，乙醇的残留会降低洗脱效率，影响后续的酶促反应（酶切、PCR 等）。
12. 将吸附柱 **AC** 放入新的离心管中，向吸附膜的中间部位悬空滴加 **50-100  $\mu$ l Buffer EB** 或无菌水，室温放置 **3-5 min**，**12,000 rpm** 离心 **1 min**，收集 DNA 溶液。**-20 $^{\circ}$ C** 保存 DNA。  
注意：1) **Buffer EB** 在 **65 $^{\circ}$ C** 水浴中预热可以增加产量。2) 如果要提高 DNA 的终浓度，可以使用小于 **100  $\mu$ l EB** 洗脱。如果预期 DNA 的量小于 **1  $\mu$ g**，推荐用 **50  $\mu$ l Buffer EB** 进行洗脱。3) 可以将得到的 DNA 溶液重新加入到吸附柱中进行二次洗脱提高产量。