

土壤/粪便 DNA 提取试剂盒

Soil/Stool DNA Kit



产品货号： MAG-SS-GDNA-50, MAG-SS-GDNA-250

产品规格： 50 rxns、250 rxns

运输条件： 常温运输；

保存条件： 室温保存 12 个月。

应用范围： 适用于不同来源的固态或者液态粪便样本，也适用于土壤样本和拭子样本等微生物 DNA 提取。PCR 分析已经证明可成功提取所有类型的环境微生物，包括革兰氏阴性菌、真菌、藻类、放线菌和线虫等。

产品组分

组分	MAG-SS-GDNA-50	MAG-SS-GDNA-250
Lysing Matrix Z10	~25 g	~125 g
MB Mix	0.8 mL	4 mL
Buffer Lysis S1	25 mL	125 mL
Buffer Lysis S2	5 mL	25 mL
Buffer IRS	10 mL	50 mL
Buffer GHB	10 mL	50 mL
Buffer AW1	20 mL	100 mL
Buffer EB	5 mL	25 mL

注： 1) 使用前若 Buffer Lysis S2 中有沉淀，需在 58°C 下温育溶解后使用；

2) Buffer GHB 为浓缩液，使用前需加入 1.5 倍体积异丙醇，例如 20mL Buffer GHB 使用前加入 30mL 异丙醇进行稀释；

3) Buffer AW1 为浓缩溶液，使用前按照试剂瓶身标签所示，加入无水乙醇进行稀释。

产品介绍

本产品适用于土壤和粪便样本基因组 DNA 的提取。采用有效的抑制因子吸附技术，并且配有研磨珠，可最大限度的分离纯化样本中的微生物基因组 DNA。提取的核酸纯度高，质量稳定可靠，适用于各种下游应用实验，如酶切、PCR、建库等。配合磁珠法自动化提取仪器使用，可实现核酸的高通量提取。

适用仪器

适用于基于磁转移技术的 32 位或 96 位核酸提取仪。如 BIO-DL 32, TIANGEN TGuide S32, TIANLONG NP968-C, Rosetta 96 等自动化核酸提取仪，也适用于手动提取。

实验步骤

一. 首次使用前：





1. 自备试剂：异丙醇（AR），75%乙醇（AR），无水乙醇（AR）

二. 样本前处理：

1. 向2mL研磨管中加入0.5g Lysing Matrix Z10，0.25g样品、500μL Buffer Lysis S1和100μL Buffer Lysis S2。

注：1) 针对含有保存液的粪便样本，可混匀后吸0.25mL；针对土壤样品，加入量可为0.25g。

2) 针对含有保存液的拭子样本或其他体液样本，可混匀后吸0.25mL。

3) 如果需要去除RNA，在该步骤加入3μL 100mg/mL RNase A以降解RNA。

2. 使用如下二个选项之一的方法进行均浆化：

◆ 旋涡仪均浆：将装有样本和研磨珠的离心管，在涡旋仪上高速（建议3,000rpm以上）涡旋振荡5分钟；

◆ 珠磨仪均浆：不同品牌珠磨仪功率不同，需进行参数调整。使用国产大部分组织研磨仪时，推荐速度为50-70 HZ/秒即振荡次数3000-4000次/分钟，研磨时间为2分钟。

3. (可选步骤)

对于多数微生物样本：匀浆操作完毕后，继续70°C温浴10分钟；

对于极难破裂的细菌：匀浆操作完毕后，继续90°C温浴10分钟。

注：1) 部分细菌或真菌带有很厚的细胞壁，极难裂解，90°C水浴10分钟可提高裂解效果但容易引起DNA碎片化，推荐先使用70°C水浴处理样本，再根据提取结果，调整水浴温度和珠磨时间，使得DNA的碎片化程度不会影响常规PCR反应；

2) 对难以提取样本可以尝试此步骤以增加DNA提取得量，常规样本可不进行加热裂解。

4. 将研磨后的离心管，于12,000 rpm (13,400 x g) 离心2分钟，将全部上清液转移至干净的1.5mL 离心管中，加入200μL Buffer IRS，上下颠倒混匀，快速涡旋15秒，4°C放置10 min。

5. 将离心管于12,000 rpm下离心2分钟，吸取450μL上清液至新的2mL离心管中，按【纯化步骤】继续进行后续操作。

二. 纯化步骤-手动法：

1. 向离心管中加入500μL Buffer GHB（已用异丙醇稀释）和15μL MB Mix，1000rpm涡旋振荡6分钟。

2. 瞬时离心，将离心管置于磁力架上，静置约20秒，磁珠完全吸附后，保持磁吸状态用移液枪吸弃上清液，勿接触磁珠。

3. 向离心管中加入700μL Buffer AW1（已用乙醇稀释），1000rpm涡旋振荡2分钟，瞬时离心，磁场分离，吸弃上清液。

4. 使用700μL 75%乙醇溶液，按照相同方法操作清洗2次。

5. 吸弃上清液后，将离心管继续保持在磁力架上，放入45~50°C烘箱中，干燥约5~10分钟至无明显乙醇气味（也可室温晾干，但需要更长时间）。

6. 挥发除醇结束后，向离心管中加入50~100μL Buffer EB，吹散或震散磁珠，置于58°C水浴锅（或恒温振荡器）中，加热5~10分钟，期间混匀2~3次。磁场分离，将洗脱液转移至另一干净离心管中，得DNA产物，提取过程结束。

三. 纯化步骤-96位核酸提取仪

1. 将Sample Plate中加入500μL Buffer GHB（已用异丙醇稀释）和15μL MB Mix；

2. 在Sample Plate中加入450μL裂解上清液；



UElandy Inc.

Tel:0512-88965152

Web:www.uelandy.com



3. 将96位磁棒套放入到Wash 2 Plate中（必须准确放入，否则可能损坏磁棒套。此步骤为针对KingFisher Flex，若使用其它品牌仪器请做相应调整）。
4. 将试剂板按对应顺序放入核酸提取仪中，运行程序。
5. 程序运行完毕，转移Elute Plate中DNA至新离心管中，提取过程结束。

注：长时间保存建议将DNA产物保存于-20℃环境。

试剂板	内容物	KingFisher Flex	UE核酸提取仪
Sample Plate	Lysate: 450μL Buffer GHB: 500μL MB Mix: 15μL	/	盘位1
Wash 1 Plate	Buffer AW1: 700μL	/	盘位2
Wash 2 Plate	75%乙醇: 700μL	放入96-Tip	盘位3
Wash 3 Plate	75%乙醇: 700μL	/	盘位4
Elute Plate	Buffer EB: 100μL	/	盘位8

【UE 96位核酸提取仪程序参数】

步骤	盘位	名称	等待时间(sec)	混合时间(sec)	磁吸时间(sec)	容积(μL)	混合速度	温度(°C)
1	1	Binding	0	360	60	900	3	OFF
2	2	Wash 1	0	180	30	700	3	OFF
3	3	Wash 2	0	120	30	700	3	OFF
4	4	Wash 3	0	120	30	700	3	OFF
5	8	Elution	180	360	60	100	3	60
6	4	Beads Discarding	0	30	0	700	3	OFF

四. 常见问题

1. DNA有颜色

样本用量过多：粪便样本富含抑制剂，可将样品用量减少至0.1g。

加热裂解导致色素溶出，珠研磨后无需进行加热孵育，直接进行下一步骤。

2. DNA产物纯度低

裂解不充分：珠磨机均浆替代涡旋仪进行机械裂解，延长裂解时间。

样本用量太多：粪便样本富含抑制剂，样品用量减少至0.1g。

抑制因子未完全去除：增加Buffer IRS体积至250-300μL，当DNA产物的A260/230比值低于1.0, A 340超过0.2，则预示可能有抑制剂污染。

