

UE 土壤/粪便 DNA 提取试剂盒

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 PCR、杂交、STR、NGS等。本产品使用安全方便，单个样本操作可在30分钟内完成。

一、试剂盒组成、贮存、稳定性

Cat.No.	UE-MN-SS-GDNA-50	UE-MN-SS-GDNA-250
Kit size	50 preps	250 preps
Lysing Matrix Z10	~25g	~125 g
Spin Columns NP	50 个	250 个
Collection Tubes	50 个	250 个
Buffer Lysis S1	30 mL	150 mL
Buffer Lysis S2	5 mL	25 mL
Buffer IRS	10 mL	50 mL
Buffer GHB	50 mL	250 mL
Buffer AW1	12 mL	60 mL
Buffer EB	10 mL	30 mL
Protocol manual	1	1

- 1) 使用前若Buffer Lysis S2和Buffer GHB中有沉淀，需在56°C下温育溶解后使用；
- 2) Buffer AW1为浓缩溶液，使用前需加入1.5倍体积乙醇。例如：15mL Buffer AW1使用前需加入22.5mL乙醇进行稀释。

二、适用样本类型

适用于不同来源的固态或者液态粪便样本，也适用于土壤样本中的基因组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

三、注意事项

1. 样本应避免反复冻融，否则会导致DNA片段较小且提取得率下降；
2. 在所有吸取上清液的步骤中应避免吸取到沉淀，否则会堵塞吸附柱，并影响DNA纯度；
3. 建议充分混匀样本，如果样本混匀不充分可能会影响裂解效率，最终影响纯度和得率。

四、实验准备

1. 自备试剂：75%乙醇 (AR)、无水乙醇 (AR)；
2. 使用前若Buffer Lysis S2和Buffer GHB中有沉淀，需在56°C下温育溶解后使用；
3. Buffer AW1为浓缩溶液，使用前需加入1.5倍体积乙醇。例如：15mL Buffer AW1使用前需加入22.5mL乙醇进行稀释。

五、操作步骤

1. 向2mL 研磨管中加入0.5g Lysing Matrix Z10、0.1~0.25g 样品、600μL Buffer Lysis S1 和 100μL Buffer Lysis S2。
*针对含有保存液的粪便样本，可混匀后吸取0.1~0.25mL；针对土壤样本，建议加入量为0.25g。
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，在涡旋仪上全速（建议3,000rpm以上）涡旋振荡5min；
 - ◆ 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（对难以提取样本可以尝试此步骤以增加DNA提取得量）：

本产品仅供科研使用，请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。

匀浆操作完毕后，继续70°C温浴10min（适合多数微生物样本，对于极难破裂的细菌，可以提高到90°C温浴10min。）

- 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10min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

4. 将匀浆后的离心管，于12,000 rpm (13,400 x g)下离心1min，把全部上清液转移至干净的1.5mL离心管，加入200μL Buffer IRS，上下颠倒混匀，快速涡旋15sec，4°C放置10 min。
5. 将离心管于12,000rpm下离心2min，吸取至多600μL（但不可吸取到沉淀物）上清液至新的2mL离心管中，加入900μL Buffer GHB，上下颠倒混匀，快速涡旋10sec。
6. 吸取750μL 步骤5的溶液到已装入收集管的吸附柱（Spin Columns NP）中，12,000 rpm离心1min，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管（Collection Tubes）中。
注：吸附柱最大容量为750μL，请分多次过柱。
7. 向吸附柱中加入500μL Buffer AW1（已用乙醇稀释），12,000 rpm离心1min，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。
8. 向吸附柱中加入600μL 75%乙醇，12,000 rpm离心1min，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。
9. 12,000 rpm离心2min，小心将吸附柱装在干净的1.5mL离心管（自备）中。
10. 室温晾干1~2min以彻底去除残留乙醇，向吸附柱的中间部位悬空滴加50~100μL Buffer EB，室温放置2min，12,000 rpm离心1min，将溶液收集到离心管中。

六、常见问题

1. DNA有颜色
样本用量过多：粪便样本中富含抑制剂，样品用量减少至0.1g。
2. DNA产量低
裂解不充分：珠磨仪均浆替代涡旋仪进行机械裂解，延长裂解时间。
3. 纯度低
裂解不充分：珠磨仪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。
4. DNA碎片化严重
优化珠研磨条件或时间：优化珠研磨条件减少DNA降解，可适量减少振荡时间。