

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，包括革兰氏阴阳性菌、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	10 mL	25 mL

注： 1) 使用前若 Buffer Lysis S2 中有沉淀，需在 58℃ 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：



UElandy Inc.

Tel: 0512-88965152

Web: www.uelandy.com



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℃温浴10分钟；

对于极难破裂的细菌：匀浆操作完毕后，继续90℃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℃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℃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℃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℃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℃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；



UElancy Inc.

Tel:0512-88965152

Web:www.uelancy.com



2. 在Sample Plate中加入450μL裂解上清液；
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(℃)
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，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。

