

Soil Genomic DNA Kit User Manual

Product Name	Unit	Cat.#
Soil Genomic DNA Kit	50T	MF069-01

【Storage】

Room temperature

【Components】

	MF069-01
Buffer SW	60ml
Buffer SL	30ml
Buffer GLS	30ml
Buffer PR (concentrate)	13ml
Buffer GW1 (concentrate)	13ml
Buffer GW2 (concentrate)	15ml
Buffer GE	15ml
Spin Columns DM with Collection Tubes	50

【Introduction】

本试剂盒适用于从新鲜或冷冻的干燥土壤、湿泥、淤泥及海河沉淀物中提取总DNA。本产品使用安全方便，单个样品操作一般可在40分钟内完成。使用本品每克土壤可获得5μg以上的DNA，片段长度主要在20-30 kb之间。本试剂盒采用独特的溶液能够有效去除杂质和腐殖酸，通过优化的缓冲系统使裂解液中的DNA高效结合到吸附柱上，土壤中残留的杂质、PCR和酶反应的抑制剂可通过两步洗涤步骤有效去除，最后使用低盐缓冲液或水洗脱，即可获得高纯度DNA。纯化得到的DNA可以直接用于酶切、PCR、Real-Time PCR、文库构建、Southern Blot、分子标记等下游实验。

【自备试剂】

无水乙醇，70%乙醇。

【Caution】

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. 第一次使用前应按照试剂瓶标签的说明先在Buffer PR、GW1和Buffer GW2中加入无水乙醇。
3. 使用前请检查Buffer SL和Buffer GLS是否出现结晶或者沉淀，如有结晶或者沉淀，请将Buffer SL和Buffer GLS于56°C水浴重新溶解。

【Protocol】

1. 取0.1 g-0.3 g土壤样本，置于离心管（自备）中，加入1 ml Buffer SW，涡旋振荡1-3分钟（须将管底的土壤震起来）。12,000 rpm（~13,400×g）离心1分钟，倒掉上清。
2. 加入750 μl 70%乙醇，涡旋振荡1分钟（须将管底的土壤震起来），12,000 rpm离心1分钟，倒掉上清，用移液器将余液吸尽。
3. 向沉淀中加入500 μl Buffer SL，涡旋振荡1-3分钟（须将管底的土壤震起来），65°C水浴20分钟（可每隔5分钟涡旋振荡5秒），12,000 rpm离心3分钟，将上清移至新的离心管（自备）中。
4. 向上清液中加入等体积Buffer GLS，颠倒混匀15-25次，冰上放置5分钟。12,000 rpm离心5分钟。

注意：冰上放置后液体可能会凝结，属正常现象。

5. 将步骤4中所得上清加入到已装入收集管的吸附柱（Spin Columns DM）中，12,000 rpm离心1分钟，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。

注意：若一次不能加完溶液，可分多次转入。

6. 向吸附柱中加入**500 µl Buffer PR**（使用前检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm离心1分钟，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。
7. 向吸附柱中加入**500 µl Buffer GW1**（使用前检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm离心1分钟，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**500 µl Buffer GW2**（使用前检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm离心1分钟，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。

注意：如需进一步提高DNA纯度，可重复步骤8。

9. 12,000 rpm离心2分钟，倒掉收集管中的废液。将吸附柱置于室温数分钟，以彻底晾干。

注意：这一步的目的是将吸附柱中残余的乙醇去除，乙醇的残留会影响后续的酶促反应（酶切、PCR 等）。

10. 将吸附柱置于一个新的离心管（自备）中，向吸附柱的中间部位悬空加入**50-100 µl Buffer GE或灭菌水**，室温放置 2-5分钟，12,000 rpm离心1分钟，收集DNA溶液，-20℃保存DNA。

注意：1）如果下游实验对pH值或EDTA敏感，可以用灭菌水洗脱。洗脱液的pH值对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（可以用NaOH将水的pH值调到此范围），pH值低于7.0时洗脱效率不高。

2）离心之前室温孵育5分钟可以增加产量。

3）用另外的50-100 µl Buffer GE或灭菌水再次洗脱可以增加产量。

4）如果要提高DNA的终浓度，可以将步骤10所得的DNA洗脱液重新加至吸附膜上，重复步骤10；若洗脱体积小于100 µl，可以增加DNA的终浓度，但可能会减少总产量。如果DNA的量小于1 µg，推荐用50 µl Buffer GE或灭菌水洗脱。

5）因为保存在水中的DNA会受到酸性水解作用的影响，如需长期保存，推荐用Buffer GE洗脱并于-20℃保存。

6）基因组DNA模板中微量的残余腐殖酸可能对PCR反应产生不良影响。此时将DNA稀释5-100倍问题通常即可解决。如经稀释后的DNA仍不能有效应用于PCR反应，请使用腐殖酸清除剂，以获得更高效的清除效果。

【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。