

Onestep-Lysis[®] DNA Kit for Stool and Soil

强力粪便/土壤基因组 DNA 提取试剂盒

目录号: **DNE75**

试剂盒组成

Component	DNE75 (50 preps)
Buffer SRX-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	15 g
Spin Columns AC with Collection Tubes	50

保存方法

室温（15-30℃）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 **0.25 g** 研磨珠。
注意：如果是液态样本则转移 **200 µl** 至离心管中。
 2. 加入 **840 µl Buffer SRX-N** 和 **168 µl 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℃** 水浴 **10 min**，其间振荡混匀一次。
 4. **12000 rpm**（~**13400 g**）离心 **10 min**。吸取上清液（≤**500 µl**）至新的离心管。
 5. 加入 **160 µl Buffer SP2**，涡旋混匀，**4℃** 孵育 **5 min**。**12000 rpm** 离心 **3 min**，转移上清液（≤**600 µl**）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 µl Buffer PN**，涡旋混匀，**4℃** 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 µl Buffer WB1**，**12,000 rpm** 离心 **30 sec**，倒掉废液。
 9. 向吸附柱 **AC** 中加入 **600 µl 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 µl 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℃** 保存 **DNA**。
注意：1) **Buffer EB** 在 **65℃** 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 µl EB** 洗脱。如果预期 **DNA** 的量小于 **1 µg**，推荐用 **50 µl 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。
-