

Onestep-Lysis[®] Plus DNA Kit for Soil and Feces (Bead Beating)

强力土壤/粪便 DNA 提取试剂盒（珠磨法）

目录号：DNE71

试剂盒组成

Component	DNE71 (50 preps)
PowerBead Pro	40 g
Sodium Phosphate Buffer	40 ml
MT Buffer	8 ml
PPS (Protein Precipitation Solution)	8 ml
IRS Solution	10 ml
PQ Solution	60 ml
Buffer WB2	13 ml (<i>Add indicated ethanol before first use</i>)
Buffer EB	10 ml
Spin Columns AC with Collection Tubes	50

保存方法

室温（15-30℃）保存。

产品介绍

使用 Onestep-Lysis[®] Plus DNA Kit for Soil and Feces (Bead Beating)可以在 20 min 内快速、有效地从土壤等环境样品中直接分离出纯度较高且满足建库测序的高质量基因组 DNA。快速 DNA 提取方法不使用有害的有机溶剂，如苯酚和氯仿。该试剂盒采用一种全新的、独特的方法来去除包括一些难处理的环境样本类型，如堆肥、淤泥、沉积物和粪肥，可从土壤样品中提取所有的细菌、真菌、植物和动物的基因组 DNA。

试剂盒包括四个部分：

1. 裂解

高强度陶瓷研磨珠，旨在有效地溶解所有不同来源的微生物，包括真菌孢子和芽孢、革兰氏阳性细菌、酵母、藻类、线虫和真菌。使用类似 MP 的 FastPrep 珠磨设备进行研磨混匀处理，可在 40 s 内将土壤微生物细胞进行裂解。

2. 均质化试剂

MT Buffer 和 **Sodium Phosphate Buffer** 都经过精心挑选和准备，使完整的样本均质化和蛋白增溶，提取的基因组 DNA 含有最少的 RNA 残留。

3. 杂蛋白和腐殖酸去除试剂

PPS 和 **IRS Solution** 分别用来沉淀样本中杂蛋白和高腐殖酸，防止其对后续实验造成抑制。

4. DNA 纯化和洗脱试剂

使用专门的硅胶基质膜进行程序化 DNA 纯化步骤，同时消除污染物，抑制污染物带来的并发反应。

***PQ Solution** 促使 DNA 结合到吸附柱

***Buffer WB2**（盐乙醇洗涤液，第一次使用前加入 52 ml 无水乙醇）

***Spin Columns AC**（DNA 吸附硅胶柱）

***Buffer EB**（DNA 洗脱液）

操作步骤（以下所有离心步骤均在室温下进行）

样本制备

1. 取 **0.75 g PowerBead Pro**（研磨珠）至 2 ml 离心管，加入 **0.25 g 土壤样品**。

注意：农田土、山林土、粉尘、沙土等可适当提高上样量，最高不超过 **0.5 g**；腐土、堆肥、沉积物、淤泥和粪便、肠道内容物等建议上样量为 **0.25 g**；液态样本则转移 **200 μl** 至离心管。

裂解

加入 **800 μl Sodium Phosphate Buffer** 和 **160 μl MT Buffer**，上下颠倒混匀。

注意：储存温度低时 **MT Buffer** 可能会析出和沉淀，使用前请检查，如果有沉淀析出可 **65℃** 水浴加热至溶解后使用。

2. 放入珠磨仪中研磨 40 s 匀浆。

如 **MP FastPrep®** 匀浆仪速度参数设置为 **6.0**。不同的珠磨仪因功率不同，应根据仪器设置合适的速度参数。

3. 12,000 rpm（~13,400 g）离心 2 min，转移上清到 1.5 ml 离心管。

1）预期上清体积在 **550-700 μl** 之间，吸取少量样本碎片不会影响后续操作。2）离心后上层可能会有泡沫，只需转移上清，不要吸取泡沫。

4. 加入 **150 μl PPS**，涡旋混匀 10 s，12,000 rpm 离心 2 min，转移上清到 1.5 ml 离心管。

5. 加入 **200 μl IRS Solution**，涡旋 10 s，12,000 rpm 离心 2 min，转移上清到 2 ml 离心管。上清体积通常不超过 **800 μl**，可以剩余少许上清以确保吸取溶液时不碰触管底沉淀。

6. 向上清液中加入 **1.5 倍体积 PQ Solution**，颠倒混匀 10 次（此时可能会出现絮状沉淀）。将得到的溶液 and 可能产生的絮状沉淀分多次转入已装入收集管的吸附柱（**Spin Columns AC**）中，12,000 rpm 离心 30 s，弃废液。

通常需要分 **3 次** 转入，每次不超过 **720 μl**。

7. 向吸附柱 AC 中加入 **600 μ l Buffer WB2**（使用前检查是否加入无水乙醇!），12,000 rpm 离心 30 s，弃废液。
8. 重复步骤 7。
9. 将吸附柱放回空收集管内，12,000 rpm 离心 2 min，弃收集管。
注意：这一步的目的是去除吸附柱中残余乙醇，乙醇残留会影响后续的酶促反应（酶切、PCR 等）。
10. 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 μ l Buffer EB**，室温放置 3-5 min，12,000 rpm 离心 1 min，得到 DNA 溶液。
注意：1）一定范围内，使用更少的 Buffer EB，可回收相对更高浓度的 DNA，但洗脱体积不应少于 30 μ l。
2）Buffer EB 在 65°C 水浴中预热可增加回收效率。
3）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 大于 7.5，pH 过低影响洗脱效率。
4）将离心得到的 DNA 溶液重新加入到吸附柱中进行二次洗脱，DNA 回收量可提高 10-15%。



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。
