



Toll-free:400-611-2007

Order:010-62617225 62979301

Email:zomanbio@126.com

Http://www.zomanbio.com



超纯土壤基因组DNA快速提取试剂盒

目录号: ZP318A

试剂盒组成	ZP318A-1 50次
溶液CA	25 ml
溶液CS	3 ml
溶菌酶100mg/ml	800 ul
蛋白酶K 10mg/ml	1 ml
抑制物去除液CR	100 ml
70%乙醇(加入乙醇后使用)	30 ml
洗脱缓冲液TE	15 ml
吸附柱	100 个
收集管	100 个
说明书	1 份
酚氯仿异戊醇25ml	客户自备

■ 储存条件

所有试剂置于室温(15-25℃)干燥条件下可保存12个月,保存更长时间可置于2-8℃。溶液CA和溶液CS在低温下会产生沉淀,55度放置溶解摇匀备用。

■ 产品介绍

普通的手提或者试剂盒提取的土壤基因组DNA由于常常残留有PCR的强烈抑制物如腐殖酸、棕黄酸等杂质造成实验失败,此外,由于采用了剧烈的玻璃珠击打来破裂菌体,常常造成DNA的剪切和降解。本公司经过长期研究开发出了具有自主知识产权的土壤基因组DNA,通过专利配方的腐殖酸和棕黄酸去除试剂配合特殊处理的纯化柱,可以最大程度的去除这些杂质,同时加上多次柱漂洗,确保得到的DNA具有极高纯度,此外独特的抽提和裂解体系可以迅速裂解细胞(壁)和灭活细胞内核酸酶,不需要借助玻璃珠破壁,有效保证了基因组DNA的完整性。

■ 产品特点

1. 本公司独有的专利配方和纯化柱能有效去除腐殖酸等杂质。
2. 不需要借助玻璃珠破壁,有效保证了基因组DNA的完整性,长度可达30kb -50kb,可直接用于PCR, Southern-blot和各种酶切反应。
3. 兼容性强,适用于各种不同的土壤包括淤泥等提取困难的土壤。
4. 多步骤去除各种杂质和抑制物,保证了极高纯度, OD_{260}/OD_{280} 典型的比值达1.7~1.9。
5. 不需要使用有毒的苯酚等试剂,也不需要乙醇沉淀等步骤。
6. 快速,简捷,单个样品操作一般可在60分钟内完成。

■ 注意事项

1. 所有的离心步骤均在室温完成,使用转速可以达到13,000rpm的传统台式离心机,如Eppendorf 5415C 或者类似离心机。
2. 开始实验前根据需要将水浴预热到37℃或者70℃备用。
3. 酚氯仿异戊醇和抑制物去除液CR中含有刺激性化合物,操作时要戴乳胶手套,避免沾染皮肤,眼睛和衣服。若沾染皮肤、眼睛时,要用大量清水或者生理盐水冲洗。
4. 洗脱液TE不含有螯合剂EDTA,不影响下游酶切、连接等反应。也可以使用水洗脱,但应该确保批pH大于7.5, pH过低影响洗脱效率。用水洗脱DNA应该保存在-20℃。DNA如果需要长期保存,可以用TE缓冲液洗脱(10mM Tris-HCl, 1mM EDTA, pH 8.0),但是EDTA可能影响下游酶切反应,使用时可以适当稀释。

实验室使用,仅用于科研

北京庄盟国际生物基因科技有限公司
Beijing Zoman Biotechnology Co.,Ltd.



■ 操作步骤（实验前请先阅读注意事项）

提示：第一次使用前请先在70%乙醇中加入无水乙醇摇匀，并打钩标记！

1. 取0.2-0.25克土壤放入离心管（不易分散的土样可先捣碎后称量加入），加入500ul 溶液CA，强力涡旋振荡30秒。
2. 加入10ul 溶菌酶（100mg/ml），短暂涡旋或振荡混匀。37℃温育20分钟，每10分钟振荡混匀1次。
3. 加入20ul蛋白酶K（10mg/ml）溶液，短暂涡旋或振荡混匀。37℃温育10分钟，每5分钟振荡混匀1次。
4. 加入25ul 溶液CS，涡旋振荡10-20秒，60℃温育30分钟，振荡混匀几次。

60℃温育时间可以根据具体样品种类和产量进行延长或者缩短以取得最佳产量和纯度，可在10分钟 - 2小时范围内调整。

5. **（可选步骤）：**于 - 70℃冰箱冷冻，65℃水浴融化，反复3次。

对于难裂解的菌类如革兰氏阳性菌含量丰富的土壤，可加做此步骤来帮助裂解。

6. 涡旋振荡10-20秒，12,000 rpm离心10分钟，去掉沉淀，小心转移上清和上层灰白漂浮物（木屑除外）至新的离心管；下层杂质和少量上层杂质会在下一步中去除。
7. 加入400ul 酚氯仿异戊醇（有刺激性气味！）用力振荡混匀；放置1分钟；12,000 rpm离心5分钟，**200ul枪头**小心转移上清至新的离心管（并记录下体积）。尽量不要吸取中层的蛋白杂质。通常上清体积会在400ul左右。

注意：务必不要吸入酚氯仿，否则会在下一步中萃取异丙醇，而影响DNA沉淀。判断是否吸入，可以10000转离心30秒，看是否分层。

8. 加入0.6倍体积的异丙醇，颠倒几次混匀，4℃放置10分钟。
9. 12,000 rpm离心5分钟，倒掉上清（可以卫生纸擦下管口），保留沉淀。
10. 加入500ul 70%乙醇，涡旋振荡5-10秒，12,000 rpm离心3分钟，倒掉上清；保留沉淀。瞬离后，用**10ul枪头**，尽可能吸尽上清。
11. 加入50ul洗脱缓冲液TE，用**10ul枪头**吹吸打散，分散到2mm见方以下即可。在下一步中将会进一步溶解和离心处理。
12. 加入抑制物去除液CR 700ul（去腐植酸的试剂）。颠倒振荡溶解约30秒，团块大，溶解的时间会长，可以振荡吹打和60℃加热助溶。通常溶解后无颗粒物存在。

13. 12,000 rpm离心2分钟，取上清加入到基因组DNA吸附柱中（离心后无沉淀物也是正常现象）。12,000rpm离心30-60秒，倒掉收集管中的废液。
14. 加入抑制物去除液CR 300ul，12,000 rpm 离心30秒，弃废液。
15. 加入700ul 70%乙醇（**请先检查是否已加入无水乙醇！**），12,000 rpm 离心30秒，弃掉废液。
16. 加入500ul 70%乙醇，12,000 rpm 离心30秒，弃掉废液。
17. 将吸附柱放回空收集管中，12,000 rpm离心2分钟，尽量除去漂洗液，以免漂洗液中残留乙醇抑制下游反应。
18. 取出吸附柱，放入一个干净的离心管中，在**吸附膜的中间部位**加40-100ul洗脱缓冲液TE，室温放置2分钟，12,000 rpm 离心1分钟。
洗脱体积越大，洗脱效率越高，如需要DNA浓度较高，可以适当减少洗脱体积，但是最小体积不应少于40ul，体积过小降低DNA洗脱效率，减少DNA产量。
19. DNA可以存放在2-8℃，如果要长时间存放，可以放置在 - 20℃。
20. 电泳结果显示得率不错，而提取的DNA仍然有黄褐色，可以将得到的DNA再做一次纯化，即重做第12步到18步，这时14步可以省略。通常回收率在60-80%。关于使用比例：50-100ul DNA 加 700ul抑制物去除液CR。

关于PCR

少量腐植酸即可完全抑制PCR，我们的实践表明PCR体系中加入适量的BSA即可有效减少抑制。

推荐使用，每20ul体系加入1ul BSA（我们提供的），模板的使用量要看PCR情况，初步使用量为 1ul模板或0.5ul或稀释5-10倍取用。PCR 产物中可能有粘稠物，这应该是腐植酸聚沉蛋白的结果。电泳时不要取用这些粘稠物。