

Version: AA 3.2 (2021.04.01修订)

SPARKeasy SoilPure DNA Kit

超纯土壤基因组DNA快速提取试剂盒

(离心柱型)

目录号: AA0801-A、AA0801-B

01/产品组分

序号	组分	50次 AA0801-A	50次 AA0801-B
1	溶液 SUS	25 mL	25 mL
2	溶液 LYS	6 mL	6 mL
3	溶液 S1	15 mL	15 mL
4	溶液 S2	15 mL	15 mL
5	溶液 S3	30 mL 第一次使用前, 请加 2 倍体积无水乙醇	
6	抑制物去除液 IR	25 mL	25 mL
7	漂洗液 WB	15 mL 第一次使用前, 请加 60 mL 无水乙醇	
8	洗脱缓冲液 EB	10 mL	10 mL
9	蛋白酶 K 溶液 20 mg/mL	-	1 mL
10	吸附柱 AC 和收集管	50 套	50 套

02/保存条件

蛋白酶 K 溶液于-20℃保存, 其它组分室温 (15-25℃) 保存。

03/产品概述

本试剂盒适用于快速提取各种土壤基因组 DNA, 可在 1 h 内完成单个或多个样本的提取工作。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 剪切和降解。本试剂盒通过独特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 具有较高纯度; 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。

04/自备材料

无水乙醇、溶菌酶（用于难裂解的菌类）

05/注意事项

请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项

- ◇ 所有离心操作步骤，均在室温（15-25℃）下进行。
- ◇ 开始实验前根据需要将水浴预热到 37℃ 或者 70℃ 备用。
- ◇ 溶液 LYS 或者抑制物去除液 IR 低温时可能出现析出和沉淀，可以在 37℃ 水浴帮助重新溶解，恢复澄清透明后冷却到室温即可使用。
- ◇ 溶液 S3 和抑制物去除液 IR 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。
- ◇ 避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、pH 值变化，各溶液使用后应及时盖紧瓶盖。
- ◇ 首次使用前请先在漂洗液 WB 和溶液 S3 中加入指定量无水乙醇，充分混匀，加入后请及时在方框打钩标记已加入乙醇，以免多次加入！

06/使用方案

1. 取0.2 g土壤放入离心管，用牙签或者枪头捣碎后加入0.5 mL溶液SUS，用枪头搅拌后短暂涡旋帮助重悬。
 - ▲如果预计土壤里面含有较多难裂解的菌类如革兰氏阳性菌，可先在0.5 mL溶液SUS里面加入10 mg的溶菌酶，吹打混匀后再加入，并加做步骤2。
 - ▲可选步骤：37℃温育30 min，每10 min颠倒混匀几次。
 - ▲对于难裂解的菌类如革兰氏阳性菌含量丰富的土壤，并在上一步骤加入了溶菌酶的样品，需要加做此步骤来帮助裂解。
2. 加入20 μL蛋白酶K（20 mg/mL）溶液，短暂涡旋帮助混匀。
 - ▲可选步骤：为提高产量，可以在37℃振荡10 min或者涡旋振荡2 min（注意涡旋振荡可能剪切DNA）。
3. 加入120 μL溶液LYS，短暂涡旋混匀，65℃温育30 min，期间颠倒混匀几次。
 - ▲65℃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 min-2 h范围内调整。
 - ▲可选步骤：于-70℃冷冻，65℃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。
4. 颠倒混匀后，12,500 rpm（14,500×g）离心2 min，小心转移上清至新的离心管（记录上清体积）。
5. 加入1/3体积的溶液S1，颠倒几次，涡旋5 s混匀后，冰上放置5 min。
6. 12,500 rpm（14,500×g）离心5 min，小心转移上清至新的离心管（记录上清体积）。
7. 加入1/3体积的溶液S2，颠倒几次，短暂涡旋混匀后，冰上放置5 min。
 - ▲该步骤主要是进一步去除腐殖质等PCR抑制物质以提高纯度，但是会降低一些产量，如果对产量要求高或者提取的DNA不用于PCR，可以尝试略去此步骤以提高产量。如果预计土壤成份复杂PCR抑制物质多，可以适当提高S2加入量（如加入等体积的S2），可以提高纯度，但是注意也会显著降低产量。

8. 12,500 rpm (14,500×g) 离心5 min, 小心转移上清至新的离心管 (记录上清体积)。
9. 加入1.5倍体积的溶液S3 (请先检查是否已加入无水乙醇!), 颠倒几次, 短暂涡旋混匀。
10. 将上一步混合物700 μL (包括可能有的沉淀) 加入一个吸附柱AC中, 12,000 rpm (13,400×g) 离心30-60 s, 弃废液。重复直到所有的混合物都加完。
11. 加入500 μL抑制物去除液IR, 12,000 rpm (13,400×g) 离心30 s, 弃废液。
12. 加入600 μL漂洗液WB (请先检查是否已加入无水乙醇!), 12,000 rpm (13,400×g) 离心30 s, 弃废液, 重复该步骤一遍。
13. 将吸附柱AC放回空收集管中, 12,500 rpm (14,500×g) 离心2 min, 尽量除去漂洗液。
14. 取出吸附柱AC, 放入一个干净的离心管中, 在吸附膜的中间部位加50-100 μL洗脱缓冲液EB (事先在65-70℃水浴中预热效果更好), 室温放置3-5 min, 12,000 rpm (13,400×g) 离心1 min。将得到的溶液重新加入离心吸附柱中, 室温放置2 min, 12,000 rpm (13,400×g) 离心1 min。
▲ 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50 μL, 体积过小降低DNA洗脱效率, 减少DNA产量。
15. DNA可以存放在2-8℃, 如果要长时间存放, 可以放置在-20℃。

07/流程简图



重悬: 收集0.2 g土壤, 牙签或者枪头捣碎
0.5 mL **溶液SUS**, 重悬
在0.5 mL SUS溶液中加入10 mg溶菌酶, 37℃ 30 min (选做)



裂解: 20 μL **蛋白酶K (20 mg/mL)** 37℃ 振荡10 min
120 μL **溶液 LYS**, 短暂涡旋混匀65℃ 温育30 min
14,500×g 离心2 min, 吸上清 (记录体积)



1/3体积的 **溶液S1**, 短暂涡旋混匀
冰置5 min, 14,500×g 离心5 min, 取上清 (记录体积)



1/3体积的 **溶液S2**, 短暂涡旋混匀
冰置5 min, 14,500×g 离心5 min, 取上清 (记录体积)



结合: 1.5倍体积的 **溶液S3** (请先检查是否已加入无水乙醇!)
将700 μL (包含可能有的沉淀) 混合物加入 **吸附柱AC**
13,400×g 离心30-60 s



去抑制物: 500 μL **抑制物去除液IR**, 13,400×g 离心30 s



去盐离子: 600 μL **漂洗液WB** (请先检查是否已加入无水乙醇!)
13,400×g 离心30 s, 两次



去残留乙醇: 14,500×g 空甩2 min



洗脱: 50-100 μL **洗脱液EB** (65-70℃ 预热)
室温静置3-5 min, 13,400×g 离心1 min, 可重复洗脱一次
长期储存-20℃

08/相关产品

AA1906 蛋白酶K (10 mg/mL)

AA0802 SPARKeasy 土壤基因组DNA提取试剂盒 (珠磨法)

AC0801 SPARKeasy 土壤RNA提取试剂盒 (中量)

AC0802 SPARKeasy 土壤RNA提取试剂盒

本产品仅用于科学研究!

Tel: 0531-82387577

Web: <http://www.sparkjade.com>

Support: support@sparkjade.com

