M5 HiPer Soil Genomic DNA Kit 土壤基因组提取试剂盒 User Manual

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

【Storage】Room temperature，Buffer AB 、Proteinase K 长期保存 -20°

【Components】

	MF069-01
Buffer SW	60ml
Buffer GA	30ml
Buffer GB	30ml
Buffer AB	10ml
Buffer PR	30ml
Buffer GW1 (concentrate)	13ml(第一次使用请加入 17ml 无水乙醇
Buffer GW2 (concentrate)	15ml(第一次使用请加入 45ml 无水乙醇
Buffer GE	15ml
Proteinase K	1ml
Spin Columns DM with Colletion 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

【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 **GW1** 和 **Buffer GW2** 中加入无水乙醇。
3. 使用前请检查 **Buffer GA** 和 **Buffer GB** 是否出现结晶或者沉淀，如有结晶或者沉淀，请将 **Buffer GA** 和 **Buffer GB** 于 56˚C 水浴重 新溶解。

【Protocol】

1.取 200mg 左右土壤样本，置于离心管（自备）中，加入 1ml Buffer SW，涡旋振荡 1-3 分钟(须将管底的土壤震起来)。12000rpm 离心 1 分钟，倒掉上清。

2、加入 500μL Buffer GA，涡旋振荡混匀。加入 20ul 蛋白酶 K 混匀，再加入 500ul 的 GB，充分混匀，56 度放置 10 分钟。(每隔 5 分钟颠倒混匀一次)

3、13000rpm 离心 3 分钟，小心转移上清至一新的 2ml 离心管中

4、加入 1/10 的杂质去除剂 AB，混匀，室温放置 1 分钟。

5、13000rpm 离心 3min，小心转移上清至一新的 2mL 离心管中，再加入 500ul 的无水乙醇混匀。

6、将上一步所得液体全部转移至吸附柱中（若一次不能转移完，可分次装入），12000rpm 离心 1min，弃收集管中废液。

7、向吸附柱中加入 500ul 的 PR(抑制物去除液)、室温静置 1 分钟 12000rpm 离心 1 分钟，弃收集管中废液。

8、向吸附柱中加入 500μL Buffer WB1，12000 rpm 离心 1 min，弃收集管中废液。

9、向吸附柱中加 600μL Buffer WB2，12000 rpm 离心 1 min，弃收集管中废液。

10、重复步骤 9。

11、将离心吸附柱于 12,000 rpm 离心 2 min，甩干残留漂洗液。

12、将离心吸附柱置于一个新的 1.5 ml 离心管中，打开盖子室温放置 2 分钟，加 50-100μl Buffer GE，室温放置 2 min。12,000 rpm 离心 1 min，离心管底溶液即基因组 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，如需长期保存放置在-20°冰箱。

【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。