

# Soil DNA Extraction CZ Kit

## 磁珠法土壤 DNA 提取试剂盒

本产品适合于从土壤等样品中提取 DNA。试剂盒基于超顺磁性的磁珠纯化技术，在提取过程中根据磁珠特定条件下与核酸超高的亲和力以及条件改变时释放核酸的特性，达到快速分离纯化核酸的效果。快速分离纯化过程中无需使用有毒的酚氯仿抽提，也无需进行耗时的醇类沉淀，整个提取过程只需 40~60 分钟，尤其适用于高通量的工作站等核酸自动化提取设备。得到的 DNA 可直接用于 PCR，荧光定量，微生物检测等实验。

### 产品组份

产品编号	DNS673-01 (50 T)	DNS673-02 (100 T)	DNS673-03 (500 T)
Buffer STD	40 ml	80 ml	2×180 ml
Buffer DSB	5 ml	10 ml	45 ml
Buffer W2A	15 ml	30 ml	3×50 ml
Buffer EB	10 ml	20 ml	125 ml
Buffer IRP	15 ml	30 ml	125 ml
Buffer IM	15 ml	30 ml	125 ml
Buffer GLB	85 ml	170 ml	3×200 ml
MagExtract Suspension	2×1.1 ml	4.4 ml	25 ml
Glass Beads Tube I	50	100	500

### 保存条件

本产品可在室温(15~25°C)保存 12 个月，长期保存时需置于 2-8°C。低温下，Buffer DSB 及 Buffer GLB 可能会有沉淀形成，需 37°C 水浴让沉淀完全溶解。

### 准备事项

- 自动化核酸提取仪

## 样品前处理:

1. 在研磨管(Glass Beads Tube I)中加入 0.2~0.5g 土壤样品,之后加入 650 $\mu$ l Buffer STD 及 65 $\mu$ l Buffer DSB, 最高速度涡旋混匀 10min, 也可采用研磨仪进行混匀(具体参数根据仪器型号进行调整)。
2. 70°C加热 10 分钟。
3. 13,000 $\times$ g 离心 2 分钟, 转移~500 $\mu$ l 上清至新的离心管中。
4. 加入 200 $\mu$ l Buffer IRP 至上清液中, 再加入 200 $\mu$ l Buffer IM, 涡旋混匀。冰上或 4°C 放置 5 分钟, 13,000 $\times$  g 离心 1 分钟。上清液待用, 按仪器方案或手工方案进行提取。

## 实验步骤 (KingFisher Flex 核酸提取仪)

### 1. 按照下表进行试剂分装

#### A. 常规方案

板名称	预装试剂	使用前加入
样品板	500 $\mu$ l Buffer GLB 40 $\mu$ l MagExtract Suspension	● 450 $\mu$ l 土壤上清液
洗板1	500 $\mu$ l Buffer GLB	96孔磁套
洗板2	600 $\mu$ l Buffer W2A	
洗板3	600 $\mu$ l Buffer W2A	
洗脱板	100 $\mu$ l Buffer EB	

#### B. 高产量方案

板名称	预装试剂	使用前加入
样品板1	500 $\mu$ l Buffer GLB 40 $\mu$ l MagExtract Suspension	● 400 $\mu$ l 土壤上清液
样品板2	500 $\mu$ l Buffer GLB	● 400 $\mu$ l 土壤上清液 ● 96孔磁套
洗板1	500 $\mu$ l Buffer GLB	
洗板2	600 $\mu$ l Buffer W2A	
洗板3	600 $\mu$ l Buffer W2A	
洗脱板	100 $\mu$ l Buffer EB	

2. 启动 KingFisher Bindit 3.3 程序, 导入 DNS673A 或 DNS673B 程序。

3. 执行程序，按提示将装有样品或试剂的 96 孔板放到仪器对应的槽中。
4. 约 30 分钟后程序执行完毕。取出 DNA 样品，用封口膜封好。把 DNA 保存于-20°C。

## 实验步骤（手工方案）

1. 样品前处理完毕后，转移 600 $\mu$ l 上清液至 2ml 离心管中。加入 700 $\mu$ l Buffer GLB，40 $\mu$ l MagExtract Suspension 至样品中，涡旋混匀 15 秒。
2. 室温放置 6 分钟，期间颠倒混匀数次。
3. 将离心管放置于磁力架静置 30 秒，磁珠完全吸附后，小心吸弃液体。
4. 将离心管从磁力架取下，加入 500ul Buffer GLB，涡旋混匀 1 分钟。
5. 将离心管放置于磁力架静置 30 秒，磁珠完全吸附后，小心吸弃液体。
6. 将离心管从磁力架取下，加入 600ul Buffer W2A，涡旋混匀 1 分钟。
7. 将离心管放置于磁力架静置 30 秒，磁珠完全吸附后，小心吸弃液体。
8. 重复 6~7 步一次。
9. 短暂离心，将离心管放置于磁力架上，吸尽残液。打开管盖，室温干燥 15 分钟。
10. 将离心管取下，加入 80~100ul Buffer EB，涡旋混匀，55°C 振荡温育 10 分钟，若无振荡温育，期间涡旋混匀 3~4 次。
11. 将离心管放于磁力架上，静置吸磁 2 分钟，转移 DNA 溶液至新的离心管保存于-80°C。

## 常见问题

### 1. DNA 产量低

- 样品前处理过程中必须涡旋足够长的时间充分打散土壤样品。
- 磁珠未充分打散导致磁珠量较少，结合力下降。

### 2. 下游结果不理想

- **腐殖酸残留**：加入 Buffer IM 后必须充分涡旋混匀，对于淤泥等腐殖酸含量高的样品冰浴不可省略，经过离心后上清颜色应该明显变淡。
- **转移上清时注意尽可能避免吸入沉淀，导致 DNA 纯度下降。**
- **洗脱不充分**：可将洗脱液预热至 60°C 后再进行洗脱，提高洗脱效率。

### 3. 纯度低

- **洗涤不充分**：必要时可进行两次 GLB 洗涤，充分洗去杂质。
- **转移上清时注意尽可能避免吸入沉淀。**