

Onestep-Lysis[®] Plus DNA Kit for Soil and Feces(Bead Beating)**强力粪便/土壤基因组 DNA 提取试剂盒（珠磨法）**目录号：**DNE71****试剂盒组成**

Component	DNE71 (50 preps)
Sodium Phosphate Buffer	50 ml
MT Buffer	10 ml
PPS (Protein Precipitation Solution)	10 ml
IRS Solution	10 ml
Buffer WB1	25 ml
Buffer WB2	13 ml
	使用前按标签加入无水乙醇
Buffer EB	10 ml
PowerBead Pro	40 g
Spin Columns AC with Collection Tubes	50

保存方法

室温（15-30℃）保存。

产品介绍

本试剂盒采用可以特异性结合 DNA 的离心吸附柱和独特缓冲液系统提取复杂土壤/粪便/发酵物样本的基因组 DNA。独特抑制物清除剂可以有效去除样品中的杂质。提取的基因组 DNA 片段大，纯度高，质量稳定可靠。使用本试剂盒回收的 DNA 可直接用于 PCR 等分子生物学下游实验。

注意事项

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. 环境温度低时 MT Buffer 缓冲液会析出沉淀，可水浴加热重新溶解，轻轻摇匀后使用。
3. 充分混匀样品，如果样品混匀不充分可能影响裂解效率，最终影响得率和比值。
4. 所有离心步骤均在室温下进行。

5. 第一次使用前请先在 Buffer WB2 瓶加入指定量无水乙醇，混匀后请及时在方框内打钩标记，以免重复加入！
6. 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 在 7.5-8.5 之间，pH 过低影响洗脱效率。

操作步骤（以下所有离心步骤均在室温下进行）

1. 取 0.2-0.4 g 土壤/粪便/发酵物至 2 ml 离心管，加入 0.5 g PowerBead Pro。
注意：如果是液态样本则转移 200 μ l 至离心管中。
2. 加入 **840 μ l Sodium Phosphate Buffer** 和 **168 μ l MT Buffer**，上下颠倒混匀，使用组织研磨仪研磨 45 s。
注意：使用前检查 MT Buffer 是否有沉淀，若有沉淀，请水浴加热至完全溶解后使用。
3. 70 $^{\circ}$ C 水浴 10 min，其间振荡混匀一次。
4. 12000 rpm（ \sim 13400 g）离心 10 min。吸取上清液（ \leq 500 μ l）至新的离心管。
5. 加入 **160 μ l Buffer PPS** (Protein Precipitation Solution)，涡旋混匀，4 $^{\circ}$ C 孵育 5 min。12000 rpm 离心 3 min，转移上清液（ \leq 600 μ l）至新的离心管。
注意：离心后微量杂质会附着在管底或管内壁，吸取上清时避开微小沉淀。
6. 加入 **200 μ l IRS Solution**，涡旋混匀，4 $^{\circ}$ C 孵育 5 min。12000 rpm 离心 1 min，转移上清液至新的离心管。
7. 加入 **0.5 倍**上清体积的异丙醇，涡旋混匀，将得到的溶液分两次转入已装入收集管的吸附柱（Spin Columns AC）中，12000 rpm 离心 30 sec，倒掉收集管中的废液。
8. 向吸附柱 AC 中加入 **500 μ l Buffer WB1**，12,000 rpm 离心 30 sec，倒掉废液。
9. 向吸附柱 AC 中加入 **600 μ l Buffer WB2**（使用前请确认是否已加入无水乙醇！），12,000 rpm 离心 30 sec，倒掉废液。
10. 重复步骤 9。
11. 将吸附柱 AC 放回空收集管中，12,000 rpm 离心 2 min，弃掉收集管和废液。
注意：这一步的目的是将吸附柱中残余的乙醇去除，乙醇的残留会降低洗脱效率，影响后续的酶促反应（酶切、PCR 等）。
12. 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** 或无菌水，室温放置 3-5 min，12,000 rpm 离心 1 min，收集 DNA 溶液。-20 $^{\circ}$ C 保存 DNA。
注意：1）Buffer EB 在 65 $^{\circ}$ C 水浴中预热可以增加产量。2）如果要提高 DNA 的终浓度，可以使用小于 100 μ l EB 洗脱。如果预期 DNA 的量小于 1 μ g，推荐用 50 μ l Buffer EB 进行洗脱。3）可以将得到的 DNA 溶液重新加入到吸附柱中进行二次洗脱提高产量。