

## 土壤基因组 DNA 快速提取试剂盒 使用说明书

产品编号：DE271

储存条件：常温保存，保质期 1 年。

产品内容：

产品内容	DE271-50T
裂解液 I	25 mL
裂解液 II	25 mL
结合液 III	50 mL
洗涤液	50 mL
洗脱液	10 mL
硅胶膜 DNA 吸附柱	50 套
说明书	1 份

### （一）土壤样品处理：

1. 65°C 预热裂解液 I，待其沉淀溶化后充分混匀，取 0.5 mL 加入到 1.5 mL 离心管中并置于 65°C。
2. 称取 0.1-0.3 g 的土壤，加入到装有预热的裂解液 I 的离心管中，震荡器上剧烈震荡 5-10 min。

**注意：**如样品处理量较大，可按比例增大样品处理体积，但需保证震荡充分。

3. 将离心管置于 65°C 水浴中保温 10 min。

### （二）土壤 DNA 纯化：

1. 12,000 rpm 室温离心 3 min，将上清转移到一新离心管中(上清液一般呈淡黄色或深棕色，实际颜色取决于腐殖酸的含量，上清液的体积一般为 300-400  $\mu$ L)。
2. 在上清液中加入等体积的裂解液 II，上下颠倒 30 秒充分混匀，溶液将呈白色或淡黄色混浊状。
3. 将离心管冰浴至少 5 min。
4. 12,000 rpm 室温离心 3 min，转移上清到新的 1.5 mL 离心管中，上清液颜色将比上步得到的上清的颜色稍淡，体积在 0.7 mL 左右。

5. 加入 0.2 mL 的氯仿(自备), 震荡器上充分振荡 30 s 混匀。注意:一定要让管底的溶液震荡起来。
6. 12,000 rpm 室温离心 3 min, 小心转移 0.6 mL 上清到新离心管中。

### (三) 基因组 DNA 收集:

1. 在步骤(二)所得的上清中加入 1.5 倍体积的结合液 III (0.9 mL), 颠倒数次混匀后, 分两次上 DNA 吸附柱, 每次上柱后均先室温放置 2 min, 然后 12,000 rpm 离心 1 min, 倒掉穿透液。
2. 在吸附柱中加入 500  $\mu$ L 洗涤液, 12,000 rpm 离心 1 min, 弃穿透液。重复洗涤一次。
3. 再将吸附柱 12,000 rpm 离心 30 s 以甩干乙醇。
4. 将吸附柱放入一个干净的 1.5 mL 离心管中。在吸附柱中央加入 50  $\mu$ L 洗脱液 (65-70°C 预热), 室温静置 2 min。12,000 rpm 离心 2 min。将穿透液重新加入吸附柱中央, 12,000 rpm 离心 1 min 以洗脱更多基因组 DNA。
5. 检测 DNA 质量。将所得的基因组 DNA 保存于 -20°C 冰箱。