

土壤基因组DNA抽提试剂盒(离心柱式)

产品编号	产品名称	包装
D0093S	土壤基因组DNA抽提试剂盒(离心柱式)	50次

产品简介:

- 碧云天的土壤基因组DNA抽提试剂盒(离心柱式) (Soil Genomic DNA Purification Spin Kit), 也称土壤基因组DNA提取试剂盒、土壤总DNA抽提试剂盒、土壤微生物DNA抽提试剂盒、土壤微生物基因组DNA抽提试剂盒、Soil Microbiome DNA Purification Kit等, 是一种采用三步脱腐法去除腐殖酸等土壤污染因子后抽提土壤中微生物基因组DNA的试剂盒。抽提获得的DNA可以应用于PCR、qPCR或基因组学研究等下游实验。
- 土壤微生物(Soil microorganism), 是土壤中细菌、真菌、放线菌和古菌等微生物的总称, 是土壤生态系统的重要组成部分[1]。土壤微生物在土壤结构、土壤养分与肥力、有机质分解和支持植物生长等方面起着至关重要的作用。各种分子生物学方法如PCR、qPCR、高通量测序和宏基因组学等因精度高, 成本合理, 操作简单等优点广泛地应用于土壤微生物研究, 而高效率、高质量地提取土壤微生物总DNA是此类分子生物学研究的前提和基础[2]。
- 土壤微生物通常紧紧吸附在土壤颗粒表面, 常因难以分离而导致菌体裂解不完全, DNA电泳时呈现弥散条带。同时, 土壤中富含腐殖酸、酚类化合物和重金属等污染物, 腐殖酸具有和DNA相似的分子结构和理化性质, 通常会随着DNA被共同提取和纯化, 残留的腐殖酸会抑制下游的PCR扩增和内切酶消化等分子生物学研究。本试剂盒通过三步脱腐步骤, 可去除土壤中绝大部分的腐殖酸、酚类化合物和重金属等污染物, 同时采用研磨珠机械破碎直接提取法, 裂解绝大多数土壤微生物, 以超高提取率获得高质量、高浓度的土壤微生物DNA。
- 本试剂盒抽提DNA的实验流程如图1所示。首先土壤样品使用脱腐缓冲液去腐, 在裂解液和陶瓷研磨珠作用下裂解释放DNA, 离心获得裂解上清液, 随后加入适合DNA结合到纯化柱上的缓冲液, 然后加入到纯化柱内。通过高速离心, 使DNA在穿过纯化柱的瞬间, 结合到纯化柱上, 随后通过三次洗涤去除各种杂质, 最后通过洗脱液把DNA洗脱下来。

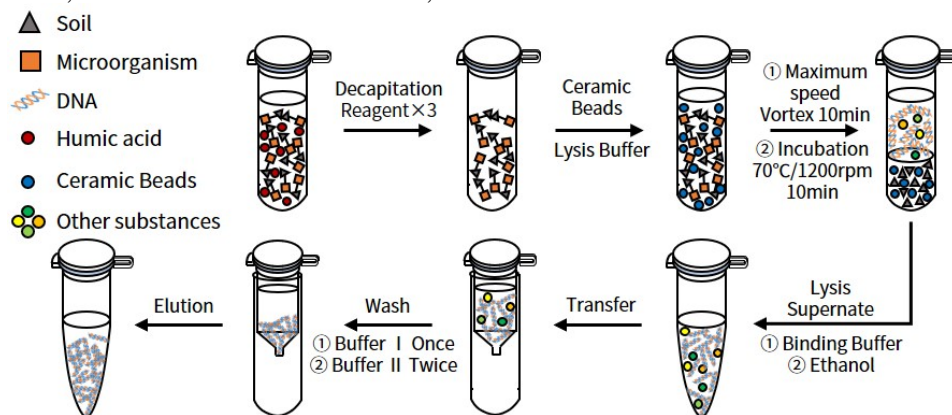


图1. 碧云天土壤基因组DNA抽提试剂盒(离心柱式) (D0093)的实验流程图。

- 本试剂盒抽提获得的土壤样品基因组DNA纯度高。本试剂盒提供的纯化柱对于DNA的最大容量约为30μg, 抽提获得的DNA A260/A280的范围通常在1.6-1.8之间, 腐殖酸残留少, 对下游PCR等实验无抑制效果。本试剂盒与常见的T品牌同类产品的抽提效果对比图参见图2, 16S rDNA扩增效果对比参见图3。

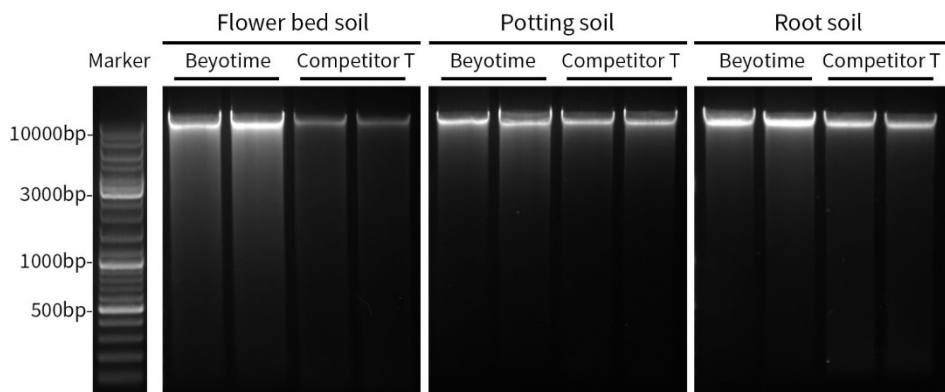


图2. 碧云天土壤基因组DNA抽提试剂盒(离心柱式) (D0093)与T品牌同类产品(Competitor T)的DNA抽提效果对比图。样品为花坛土、花盆土和树根土三种土壤，样品用量为0.25g。抽提后洗脱体积均为50μl，取10μl的洗脱样品与2μl BeyoRed DNA上样缓冲液(6X) (D0072)混合均匀后，在1%琼脂糖凝胶中电泳30分钟后拍照。如图所示，本试剂盒用于抽提花坛土(Flower bed soil)、花盆土(Potting soil)和树根土(Root soil)样品的DNA时，抽提得到的DNA的量与T品牌的同款试剂盒基本一致或略好。注：抽提得到的基因组DNA经RNase A处理。实际结果会因样品、实验条件、检测仪器等的不同而存在差异，图中数据仅供参考。

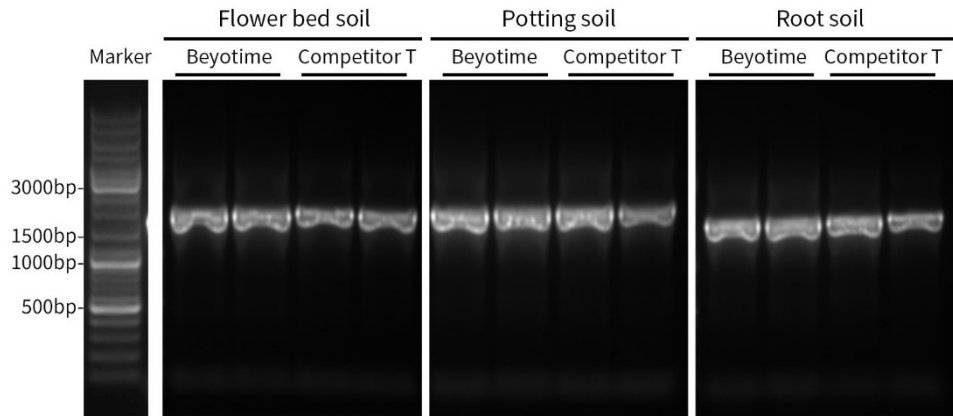


图3. 碧云天土壤基因组DNA抽提试剂盒(离心柱式) (D0093)与T品牌同类产品抽提DNA的16S rDNA扩增效果对比图。模板DNA为花坛土、花盆土和树根土三种土壤中抽提获得的DNA，用量为0.3ng，使用碧云天Easy-Load™ PCR Master Mix (Green, 2X) (D7255)扩增，直接在1%琼脂糖凝胶中电泳30分钟后拍照。如图所示，本试剂盒(Beyotime)用抽提花坛土(Flower bed soil)、花盆土(Potting soil)和树根土(Root soil)的DNA时，PCR扩增产物与T品牌的同类试剂盒(Competitor T)基本一致。注：抽提得到的基因组DNA经RNase A处理。实际结果会因样品、实验条件、检测仪器等的不同而存在差异，图中数据仅供参考。

- **本试剂盒使用安全、高效。**本试剂盒通过特殊的柱纯化介质进行DNA分离纯化，能有效避免常规方法抽提DNA时使用的酚、氯仿等有毒有害有机试剂。
- **本试剂盒操作快速、便捷。**本试剂盒采用柱纯化，无需繁琐的DNA沉淀步骤，纯化DNA操作过程仅需约15分钟即可完成。和国内外同类柱纯化产品相比，所需操作步骤和操作时间基本一致。碧云天同时提供更加便捷的BeyoMag™土壤基因组DNA抽提试剂盒(磁珠法) (D0094)。
- **本试剂盒适用范围广。**本试剂盒适用于花坛土、花盆土、农田土、树林土、腐殖土、红土、黑土和褐土等多种土壤样品。可有效裂解土壤中的革兰氏阳性菌、真菌、细菌和放线菌等土壤微生物。
- 本试剂盒的标准操作步骤抽提得到的总DNA含有少量RNA，但如果按照可选步骤加入RNase A进行RNA的去除，就可以获得不含RNA的高纯度总DNA。
- 本试剂盒小包装可用于50个土壤样品的基因组DNA抽提。

包装清单：

产品编号	产品名称	包装
D0093S-1	脱腐缓冲液I	55ml
D0093S-2	脱腐缓冲液II	55ml
D0093S-3	脱腐缓冲液III	55ml
D0093S-4	裂解液	33ml
D0093S-5	结合液	22ml
D0093S-6	洗涤液I (首次使用前加7ml无水乙醇)	21ml (+7ml)
D0093S-7	洗涤液II (首次使用前加48ml无水乙醇)	32ml (+48ml)
D0093S-8	洗脱液	11ml
D0093S-9	研磨珠	14g
D0093S-10	2ml研磨管	50个
D0093S-11	DNA纯化柱及废液收集管	50套
—	说明书	1份

保存条件：

室温保存，一年有效。

注意事项：

- **第一次使用前小包装洗涤液I需添加7ml无水乙醇，洗涤液II需添加48ml无水乙醇，混匀，并在瓶上做好标记。**
- 新鲜的土壤样品会得到更高的DNA抽提效率，不同土壤样品的保存条件请自行摸索或查阅文献。
- 如需制备不含RNA的高纯度总DNA，需自备RNase A，推荐使用碧云天的RNase A (100mg/ml, DNase free) (ST577)。
- 温度较低时裂解液或结合液中可能会有沉淀产生，属正常现象。使用前必须检查一遍，如有沉淀，55℃水浴孵育使沉淀溶解，混

匀后使用。

- 本试剂盒需使用温度可以达到70°C的恒温混匀仪，请提前做好准备，推荐使用碧云天的BeyoBath™ S100加热型振荡恒温金属浴(1.5/2ml×24) (E6665)。
- 使用本试剂盒须提前备好无水乙醇。
- 除特别说明外，每次Vortex应控制在5-10秒左右，推荐使用碧云天的BeyoVortex™调速式涡旋混匀仪(E6699)或BeyoVortex™基础型涡旋混匀仪(E6788)。
- 本试剂盒除特别说明外，所有操作均在室温进行，操作时无需冰浴。所有离心也均在室温进行。
- 废液收集管在一次抽提中需多次使用，切勿中途丢弃。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明：

1. 土壤样品脱腐。

- 取**250mg土壤样品**至2ml研磨管中。
- 加入**1ml脱腐缓冲液I**，Vortex 1分钟，14,000×g离心1分钟，弃去上清。
- 加入**1ml脱腐缓冲液II**，Vortex 2分钟，14,000×g离心1分钟，弃去上清。
- 加入**1ml脱腐缓冲液III**，Vortex 2分钟，14,000×g离心1分钟，弃去上清。

2. 土壤微生物裂解。

- 向上述2ml研磨管中加入**250mg研磨珠(约22-24个)**和**600μl裂解液**，Vortex混匀后，在涡旋振荡仪上以**最大速度Vortex 10分钟**。也可以使用TissueMaster™高通量组织研磨仪(1.5/2ml×48) (E6618)进行**研磨**，通常设置为频率25Hz，时间为**10分钟**。
- (选做)清除RNA。如果希望获得不含RNA的高纯度总DNA，可在本步骤加入4μl 100mg/ml RNase A (ST577)。
- 将2ml研磨管在恒温混匀仪上以**70°C、1200rpm震荡孵育10分钟**。
- 14,000×g离心2分钟或≥18,000×g离心1分钟，取上清液(约500μl)至新的1.5ml离心管(FTUB306)中。
- 向上述1.5ml离心管中加入**400μl结合液**，Vortex混匀。
- 加入**200μl无水乙醇**，Vortex混匀。
- 14,000×g离心2分钟或≥18,000×g离心1分钟。

3. 纯化DNA。

- 将步骤2f中的混合溶液加入到DNA纯化柱内。14,000×g离心1分钟。倒弃废液收集管内液体。切勿吸取底部沉淀。进行本步骤前需将纯化柱置于废液收集管上。倒弃废液后回收废液收集管。纯化柱最大容量为600μl，超过600μl的混合溶液可分多次过柱纯化。
- 向纯化柱中加入**500μl洗涤液I**，14,000×g离心1分钟。倒弃废液收集管内液体。进行本步骤前需将纯化柱置于废液收集管上。倒弃废液后回收废液收集管。
- 向纯化柱中加入**600μl洗涤液II**，14,000×g离心1分钟。倒弃废液收集管内液体。进行本步骤前需将纯化柱置于废液收集管上。倒弃废液后回收废液收集管。
- 重复步骤3c一次。**
- 再14,000×g离心2分钟或≥18,000×g离心1分钟，以去除残留的乙醇。不可把步骤3d的离心时间延长而省略本步骤，倒弃废液后再离心可以确保充分去除残留的乙醇。
- 将DNA纯化柱置于一洁净的1.5ml离心管上，室温静置3-5分钟，以彻底晾干。
- 加入**30-100μl洗脱液**。室温放置1-3分钟。14,000×g离心1分钟。所得液体即为纯化得到的总DNA。洗脱液需要直接加至纯化柱管内柱面中央，使液体被纯化柱吸收。如果有必要，可以使用去离子水。使用较小体积的洗脱液可以使获得的总DNA的浓度较高，但洗脱下来的DNA量相对较少。洗脱液的pH对洗脱效率有很大影响，使用去离子水洗脱时应保证其pH值在7.0-8.5之间。如果对于获得较多量的DNA非常重要，可以在第一次洗脱后，再用同体积洗脱液重复洗脱一次。第二次洗脱可增加DNA洗脱量，但会降低洗脱DNA的浓度。经65°C预热过的洗脱液可增加DNA的洗脱量。

参考文献：

- Torsvik V, Øvreås L, Thingstad TF. Science. 2002. 296(5570):1064-6.
- Daniel R. Nat Rev Microbiol. 2005. 3(6):470-8.

相关产品：

产品编号	产品名称	包装
D0061	哺乳动物基因组DNA抽提试剂盒	50次
D0063	基因组DNA小量抽提试剂盒(通用型，离心柱式)	50次
D0064S	石蜡包埋组织基因组DNA抽提试剂盒(离心柱式)	50次
D0065	动物基因组DNA快速抽提试剂盒(PCR分析用)	100次/500次
D0072	BeyoRed DNA上样缓冲液(6X)	2ml
D0085	BeyoMag™磁珠法Cell-free DNA抽提试剂盒	50次/200次
D0088S	BeyoMag™基因组DNA小量抽提试剂盒(通用型，磁珠法)	50次

D0089S	BeyoMag™石蜡包埋组织基因组DNA抽提试剂盒(磁珠法)	50次
D0091	BeyoMag™磁珠法血液基因组DNA抽提试剂盒	50次/200次/800次
D0093S	土壤基因组DNA抽提试剂盒(离心柱式)	50次
D0094S	BeyoMag™土壤基因组DNA抽提试剂盒(磁珠法)	50次

Version 2025.04.25