

土壤 DNA 提取试剂盒（柱式法）使用说明书

【预期用途】

土壤 DNA 提取试剂盒（柱式法）用于从土壤中提取动植物遗体、病毒、革兰氏阴性细菌、革兰氏阳性细菌或真菌等生物体的基因组 DNA。

【检验原理】

在高速振荡情况下，玻璃珠破坏微生物细胞壁。裂解液裂解细胞释放基因组 DNA，中和液促进硅胶膜吸附 DNA；洗涤吸附柱，去除蛋白、盐等杂质；在洗脱液低盐高 pH 值的情况下，硅胶膜释放吸附的 DNA，从而达到快速分离纯化基因组 DNA 的目的。

【试剂盒组成、贮藏及有效期】

产品编号	组成成分	50T	100T	200T
MDT-SLD01N	研磨管	50 支	100 支	200 支
	土壤释放剂	50mL×1 瓶	100mL×1 瓶	100mL×2 瓶
	土壤裂解液	25mL×1 瓶	50mL×1 瓶	100mL×1 瓶
	中和缓冲液 LS	8mL×1 瓶	15mL×1 瓶	30mL×1 瓶
	RAW1 缓冲液	12mL×1 瓶	24mL×1 瓶	48mL×1 瓶
	吸附柱（含收集管）	50 支	100 支	200 支
	洗脱液 B	5mL×1 瓶	10mL×1 瓶	20mL×1 瓶
	使用说明书	1 份	1 份	1 份

所有成分：常温（10-30℃）运输保存。有效期 1 年。

【注意事项】使用前务必认真阅读以下注意事项

1. 土壤裂解液使用前充分摇匀。
2. 提前配制 RAW1，RAW1 中乙醇含量低于 60%影响提取效果。
3. 提前配制 80%乙醇水溶液，80%乙醇水溶液中乙醇含量低于 80%会影响提取效果。
4. 提前配制 0.05M 的氢氧化钠。
5. 洗脱液使用量太少会影响提取效果。
6. 本试剂盒在有效期内不同批号试剂可以互换。
7. 虽然本产品无氯仿、苯等 OSHA 规定的危险物品，但操作时最好做好必要的防护措施，戴口罩手套，并且在通风的生物安全柜中进行。
8. 按当地法律法规处理生物样本和废弃物。

【样本要求】

各种土壤。

【适用范围】

≤500mg 土壤。

【自备器械和试剂】

小型高速离心机（最大离心力≥12,000×g）、振荡仪、1.5mL 离心管、氢氧化钠、无水乙醇和异丙醇等。

- 土壤裂解液出现沉淀为正常现象，使用前充分摇匀即可。
- **RAW1 配制：**RAW1 缓冲液使用前按照瓶身标签说明加入无水乙醇，使乙醇含量为 60%，混匀后密封常温保存。
- **80%乙醇水溶液配制：**1 份水加入 4 份无水乙醇，配制成 80%乙醇水溶液，混匀后密封常温保存。
- **0.05M 氢氧化钠配制：**2g 氢氧化钠加水至 1L，充分溶解后密封常温保存，有效期 1 个月。

【操作步骤】

1. 取 $\leq 500\text{mg}$ 土壤，加入至 2mL 平底离心管中，加入 1mL 0.05M 氢氧化钠，3,000rpm 振荡 5 分钟。

2. 取出 2mL 离心管，12,000 $\times$ g 离心 1 分钟。弃上清，保留沉淀。

3. 在沉淀中加入 1mL 土壤释放剂，3,000rpm 振荡 5 分钟。

4. 取出 2mL 离心管，12,000 $\times$ g 离心 1 分钟。弃上清，保留沉淀。

5. 将研磨管中玻璃珠倒入沉淀，加入 500 μL 土壤裂解液。闭盖 3,000rpm 振荡研磨 15 分钟。

►土壤裂解液使用前必须充分摇匀。

►为了确保 DNA 的提取效率，研磨时土壤必须充分悬浮。

6. 取出 2mL 离心管，12,000 $\times$ g 离心 10 分钟。吸取 400 μL 上清至新的 1.5mL 离心管中（避免吸出沉淀）。

7. 向离心管中加入 150 μL 的中和缓冲液 LS，吹打混匀。12,000 $\times$ g 离心 5 分钟。

8. 吸取所用上清至 1.5mL 离心管中，加入 200 μL 异丙醇，吹打混匀。转移所有液体至吸附柱。

9. 闭盖，12,000 $\times$ g 离心 1 分钟。弃废液，将吸附柱重新放入收集管中。

10. 开盖，在吸附柱中加入 600 μL RAW1，闭盖 12,000 $\times$ g 离心 20 秒。取出吸附柱，弃去收集管中的废液，将吸附柱重新放入收集管中。

11. 开盖，在吸附柱中加入 600 μL 80%乙醇水溶液，闭盖 12,000 $\times$ g 离心 20 秒。取出吸附柱，弃去收集管中的废液，将吸附柱重新放入收集管中。

12. 开盖，在吸附柱中加入 600 μL 80%乙醇水溶液，闭盖 12,000 $\times$ g 离心 20 秒。取出吸附柱，弃去收集管中的废液，将吸附柱放入新的 1.5mL 离心管中。

13. 闭盖 12,000 $\times$ g 离心 3 分钟。取出吸附柱，丢弃离心管。

14. 将吸附柱放入新的 1.5mL 离心管中，开盖，加入 50μL 洗脱液 B 至吸附柱中心位置。闭盖室温静置 3 分钟，12,000×g 离心 1 分钟，收集洗脱液，-20℃保存备用。

>洗脱液 B 的用量可根据需要调整，但不得低于 30μL。

【土壤 DNA 提取（柱式法）常见问题解答】

常见问题	原因	解决方案
未提取到 DNA 或产量低	1.样本使用量过少	增加样本使用量，但使用量不超过 500mg。
	2.样本裂解不充分	研磨不充分，增加研磨速度和时间。
	3.乙醇使用量过少或过多	按说明书准确加入无水乙醇。
	4. RAW1 中乙醇添加比例不当	使用无水乙醇配制 RAW1，使乙醇含量达 60%。
	5. 80%乙醇水溶液配制不当	使用无水乙醇配制 80%乙醇水溶液，乙醇含量达 80%。
	6.洗脱不当	洗脱液加至膜中央,适当减少洗脱体积,可 65℃预热洗脱液、延长室温静置时间或者进行二次洗脱。
纯度低	1.离子残留	避免 RAW1 接触吸附柱上下口。
	2.腐植酸残留	有些样本腐植酸含量较高，容易导致腐植酸残留。增加 1 次释放剂释放。
	3.乙醇残留	最后一次洗涤后,吸附柱 12,000×g 离心 3 分钟。

【说明书编制日期】 2025 年 01 月 28 日

【基本信息】

企业名称：无锡迈德泰克生物医药有限公司
 公司地址：江苏省无锡市惠山经济开发区惠山大道 1699 号生命科技产业园 C5 楼 C50206 室
 网 址：www.wuxi-medtech.com
 联系电话：173 1562 0564 138 6175 7779