***Ver: 2410***

**粪便/土壤基因组DNA提取试剂盒**

**（****BW-GD2430）**

**目录**

[产品组成 2](#_Toc41576918)

[保存条件 2](#_Toc41576919)

[产品简介 2](#_Toc41576920)

[实验前准备 3](#_Toc41576921)

[操作步骤 3](#_Toc41576922)

[购买须知 5](#_Toc41576923)

# 产品组成

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Catalog#** | **BW-GD2430-00** | **BW-GD2430-01** | **BW-GD2430-02** |
| Preps | 10 | 50 | 250 |
| HiPure DNA Mini Columns II | 10 | 50 | 250 |
| 2ml Collection Tubes | 10 | 50 | 250 |
| 氧化锆珠 (0.6~0.8mm) | 15 g | 60 g | 300 g |
| 塑料小勺子 | 2 个 | 4 个 | 10 个 |
| Buffer STL | 10 ml | 50 ml | 250 ml |
| Buffer SL | 3 ml | 15 ml | 60 ml |
| Buffer GWP | 15 ml | 80 ml | 2 x 180 ml |
| Buffer GW2\* | 6 ml | 20 ml | 2 x 50 ml |
| Buffer AE | 5 ml | 15 ml | 60 ml |
| User Manual | 1 | 1 | 1 |

# 保存条件

自生产之日起，本产品所有组份可在室温（15-25 ℃）保存18个月。

# 产品简介

该试剂盒是专门为从土壤/粪便样本中快速提取总DNA。试剂盒适合于从≤0.5 g的土壤/粪便样品中提取高纯度的微生物或宿主细胞DNA。试剂盒独创的裂解液成分，可快速从土壤/粪便样本中提取高质量总DNA，操作便捷。纯化的DNA可直接用于PCR、Southern杂交、酶切、测序等实验。

# 实验前准备

❂ 无水乙醇(96-100%)，异丙醇。

❂ 水浴锅或者金属浴。

❂ 小型离心机。

❂ 涡旋振荡仪/组织研磨均质仪。

# 操作步骤

1. 在 2.0ml 离心管或螺口离心管中，加入一勺氧化锆珠(0.6-0.8mm)。

采用珠磨仪时，建议使用螺口冻存管，以防止液体泄漏。

1. 加入 **0.25~0.5g** 土壤、底泥、发酵物沉渣、滤渣、0.1~0.2g 粪便以及其它环境类样品至装有研磨珠的离心管中，然后再加入 **800μL Buffer STL**。

* 干燥的环境类样品使用前，可以用筛网尽可能清除异物，如树叶、石头或小树枝。对于非常干燥的材料，如果样品材料吸收过多的裂解缓冲液，控制样品并适量增加 Buffer STL 的用量。对于非常潮湿的材料，在加入裂解缓冲液之前，可以离心后再去除多余的液体。控制样品用量以确定离心管有足够的空间进行珠磨裂解细胞壁。通常起始材料的减少也有助于提高裂解效率和提高 DNA 的纯度。
* 水体微生物 DNA 提取：可处理水样最大体积取决于样品（如来源和质量）和过滤膜（如类型、直径和孔径）。由于水样的浊度可以从清澈到高度浑浊不等。一般来说，可以处理大量的透明饮用水或饮用水，因为过滤器堵塞的可能性较低，可以处理 100 mL 到几升的体积。含有沉积物或悬浮颗粒的浊水样，如粘土、淤泥或其他无机或有机物，可能导致过滤器堵塞，对于这些样本类型，建议使用0.45µm 的过滤器。使用合适的过滤器，用直径为25 mm的过滤膜(0.2um或0.45µm) 过滤富集水体中微生物。使用无菌镊子从过滤装置取下过滤装置滤膜，将滤膜卷入圆柱体（含菌的一面朝内）并插入 2ml 匀浆管，然后加入 800µL Buffer STL1，按步骤 3 进行操作。

1. 转移至涡旋仪上最高速度涡旋 10~15 分钟或珠磨仪进行快速珠磨 30~60 秒。

* 涡旋仪:根据样品的不同，使用涡旋仪时，珠磨裂解时间增加到 15~30 min 可能是有利的，可以根据目标菌群特性和下游应用来调整。
* PowerLyzer 珠磨仪：建议 2000rpm 珠磨 30 秒，暂停 30 秒，再 2000rpm 珠磨 30 秒。
* FastPrep24 珠磨仪：建议 5m/s, 珠磨 30 秒，暂停 30 秒，再 5m/s 珠磨 30 秒。
* Tissue Lysis II 珠磨仪：建议 25Hz 珠磨 5 分钟，重新调整位置后再 25Hz 珠磨 5 分钟。

1. 13,000 x g 离心 1 分钟，加入 **200μL** **Buffer SL** 至样品中，涡旋混匀 15 秒。

处理非土壤等腐殖质含量低的环境样品，可以省略 Buffer SL。Buffer SL 可以高效去除腐殖酸等抑制物，也会引起痕量核酸的损失。处理土壤样品不要省略这一步。

1. 13,000 x g 离心 5 分钟，转移上清液至新的离心管中。
2. 转移上清液至 2ml 离心管中，加入**等倍体积 Buffer GWP**，颠倒混匀 6-8 次。

若上清液的体积为 700μL，则需加入 700μL Buffer GWP。若混合液中仍有明显的沉淀物，于13000xg 离心 1 分钟。

1. 把 **HiPure DNA Mini Columns II** 柱装在收集管中。转移一半体积的混合液至柱子中。13,000 x g 离心 1 分钟。
2. 倒弃滤液把柱子装回收集管。把剩余混合液转移至柱子中。13,000 x g 离心 1 分钟。
3. 倒弃流出液，把柱子装回收集管中。加入 **600μL** **Buffer GWP** 至柱子上。13,000 x g 离心 1 分钟。
4. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。加入 **600μL** **Buffer GW2**(已用乙醇稀释)至柱子中。13,000 x g 离心 1 分钟。
5. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。再加入 **600μL** **Buffer GW2**(已用乙醇稀释)至柱子中。

13,000 x g 离心 1 分钟。

1. 倒弃流出液，把柱子装回收集管中。13,000 × g 离心 2 分钟。
2. 将柱子装在 1.5ml 离心管中。加入 **50-100μL** 预热至 55~70ºC **Buffer AE** 至膜中央。放置 3 分钟。13,000 × g 离心 1 分钟。
3. 把洗脱液转移至柱子的膜中央，放置 3 分钟。13,000 × g 离心 1 分钟。丢弃 DNA 结合柱，把 DNA 保存 2-8℃，长期保存需保存于-20℃。

# 常见问题

1. **DNA 有颜色**

* 样品用量太多: 森林土壤和草地土壤富含腐殖酸，土壤用量减少一半。
* 加入 Buffer SL 后没有充分混匀。
* 样品用量太多: 减少样品量，处理复杂粪便样品，样品量控制在 50mg。

2. **DNA 降解严重**

* 用珠磨仪代替手工涡旋：手工涡旋时间长，会造成 DNA 的断裂。
* 样品用量太多：森林土壤和草地土壤富含腐殖酸，富含水分的底泥富含有机质，处理这些样品时，土壤用量减半操作。

3. **DNA 产量低**

* 土壤 DNA 含量低：提高样品用量，可准备多个
* 裂解不充分: 用珠磨仪来代替手工涡旋。或手工涡旋时把涡旋仪速度调到最高，不间断充

分涡旋 5-10 分钟。

* 洗脱效率不够: 增加洗脱体积和洗脱次数。由于基因组 DNA 片段大，水溶性较差。建议进行第二次洗脱以提高产量或提高洗脱液的体积。
* Buffer GWP 加入的体积不准: 得到的上清后，Buffer GWP 的体积与上清体积相同。

# 购买须知

根据说明书使用时，本产品应按其标签和倍沃的文献中所述执行。倍沃不提供任何其他类型的明示或暗示，包括但不限于适销性或适合某一特定目的的保证。在选择倍沃时，违反本保证的，倍沃唯一的义务和买方的唯一补救措施是更换产品，倍沃应当没有任何直接或间接的，或使用引起的附带损害，或无法使用它产品的责任。如需技术支持或了解更多产品信息，请致电与我们联系，或访问我们的网站



**全国服务热线：**400-115-2855

**技术邮箱：**tech@beiwobiomedical.com

**市场邮箱：**[market@beiwobiomedical.com](mailto:sales@biomiga.com.cn)

**倍沃官网：**[www.beiwobiomedical.com](http://www.biomiga.com.cn/)