

Version: AA 3.2 (2021.04.01修订)

# SPARK Soil DNA Kit

## 土壤基因组DNA提取试剂盒

### (珠磨法)

目录号: AA0802

## 01/产品组分

序号	组分	50 次 AA0802
1	珠管	50 个
2	磷酸钠缓冲液	50 mL
3	MT 缓冲液	6 mL
4	PPS 溶液	13 mL
5	IRS 溶液	15 mL
6	PQ 溶液	35 mL 第一次使用前加入指定量无水乙醇
7	WB 漂洗液	15 mL 第一次使用前加入指定量无水乙醇
8	洗脱缓冲液	15 mL
9	吸附柱	50 个

## 02/保存条件

所有组分室温（15-25℃）保存。

## 03/产品概述

本试剂盒可在 40 min 内快速有效地从土壤样品中分离提取基因组 DNA。珠磨仪，如 MP Biomedicals 的 FastPrep® 仪器，可在 40 秒内将土壤微生物轻松溶解。将样品置于含有 3 种珠子的 2 mL 管中，珠子是陶瓷和二氧化硅颗粒的混合物，旨在有效地裂解所有土壤微生物，包括难以处理的微生物，如真细菌孢子和内生孢子、革兰氏阳性细菌、酵母、藻类、线虫和真菌。

该试剂盒使用一种新颖且特有的方法去除高腐殖酸成分，包括堆肥、沉积物和粪肥等难以处理的土壤类型。分离获得的基因组 DNA

纯度高，可直接进行 PCR 扩增。可以通过 PCR 检测多种生物，包括细菌（例如枯草芽孢杆菌、炭疽芽孢杆菌），真菌（例如酵母、霉菌），藻类和放线菌（例如链霉菌）。

## 04/自备材料

无水乙醇

## 05/注意事项

### **请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项**

- ◇ 在向样品中添加磷酸钠缓冲液和 MT 缓冲液后，珠管中的填充体积应允许样品管中有足够的空气空间，以便 FastPrep® 仪器有效地进行处理。
- ◇ 针对珠管保留有 250-500  $\mu\text{L}$  的空间，建议使用 500 mg 原料。过度加样会导致珠管破裂进而导致样品损失。如果样品太多而无法在单个管中进行处理，则使用多个管将样品分开进行处理。
- ◇ 珠管帽必须牢固以防止样品泄漏，但不能过度拧紧。
- ◇ 该试剂盒已在 FastPrep® 仪器中经过严格测试。在 FastPrep® 仪器中，以速度 6.0，时间 40 s 运行，足以溶解几乎所有样品。如果用户通过实验确定需要额外的处理时间，则应将盛有样品的珠管中冰上孵育至少 2 分钟之后再行研磨，以防止样品和管过热。
- ◇ 如果您使用其他研磨设备，请按照制造商的说明手册设置适当的参数以获得良好的性能。
- ◇ 首次使用之前，将指定量的无水乙醇分别加入 PQ 溶液瓶、WB 漂洗液瓶中，充分混合，并在瓶上打勾标记，避免重复添加无水乙醇。

## 06/使用方案

1. 将最多 500 mg 的土壤样品添加到珠管中。
2. 在珠管中加入 980  $\mu\text{L}$  磷酸钠缓冲液。轻微漩涡震荡混合，加入 120  $\mu\text{L}$  MT 缓冲液。
  - ▲ 检查 MT 缓冲液。如果 MT 缓冲液有沉淀，需将溶液加热至 60°C 直至沉淀溶解后再使用。
3. 在 FastPrep® 仪器中均质化 40 s，速度设置为 6.0。
4. 以 12,000 $\times$ g 离心 5 min 以沉淀碎片。
5. 将上清液转移至干净的 2 mL 离心管中，加入 250  $\mu\text{L}$  PPS 溶液，上下翻转 10 次混合。4°C 孵育 5 min。
6. 10,000 $\times$ g 室温离心 3 min。避开沉淀，将最多不超过 900  $\mu\text{L}$  的上清液转移到干净的 2 mL 离心管中。
7. 加入 300  $\mu\text{L}$  IRS 溶液（1/3 体积）并短暂涡旋，4°C 孵育 5 min。
8. 10,000 $\times$ g 室温离心 1 min。将上清液转移到干净的 5 mL 离心管中。
9. 向澄清的上清液中加入 1.5 倍体积的 PQ 溶液，移液枪吸打混匀。
  - ▲ 注意：确保已将乙醇添加到 PQ 溶液中，加入乙醇后可能形成沉淀，但这不会影响操作。
  - ▲ 注意：直接向澄清的上清液中加入 PQ 溶液，并立即混合。

10. 将约 700  $\mu\text{L}$  混合物加到吸附柱中，10,000 $\times$ g 室温离心 1 min，弃液体。若混合物量多，可多次加入。  
▲注意：每个样品处理可能需要加 4-5 次。
11. 将600  $\mu\text{L}$  WB漂洗液（请先检查是否已加入无水乙醇！）加入到吸附柱中，10,000 $\times$ g室温离心30 s，弃液体。重复该步骤一遍。
12. 13,000 $\times$ g 室温离心 2 min，以干燥吸附柱。
13. 将吸附柱小心地放入干净的 1.5 mL 离心管中，将 50-100  $\mu\text{L}$  洗脱缓冲液（可选：预热至 65-70 $^{\circ}\text{C}$ ，可增加 DNA 产量）加入吸附柱硅胶基质膜中心。室温孵育 3-5 min，并以 13,000 $\times$ g 离心 1 min 以洗脱 DNA。  
▲注意：使用较小体积（至少 30  $\mu\text{L}$ ）的洗脱缓冲液将获得更高的浓度。  
▲可选：将洗脱液放回吸附柱中重复洗脱一次，可使 DNA 浓度增加约 10-15%。

## 07/流程简图



- 收集土壤：最多500 mg的土壤添加到 珠管，  
980  $\mu\text{L}$  磷酸钠缓冲液，涡旋混匀  
120  $\mu\text{L}$  MT缓冲液FastPrep<sup>®</sup>均质化40 s，速度6.0  
12,000 $\times$ g离心5 min，吸上清
- 裂解：250  $\mu\text{L}$  PPS溶液，上下反转10次，4 $^{\circ}\text{C}$  孵育5 min  
10,000 $\times$ g离心3 min，吸不超过900  $\mu\text{L}$ 上清  
300  $\mu\text{L}$  IRS溶液（1/3体积）短暂涡旋4 $^{\circ}\text{C}$  孵育5 min  
10,000 $\times$ g离心1 min，吸上清
- 结合：1.5倍体积的PQ溶液（请先检查是否已加入无水乙醇！）  
将700  $\mu\text{L}$ （包括可能有的沉淀）混合物加入**吸附柱**  
10,000 $\times$ g室温离心1 min，可多次
- 去盐离子：600  $\mu\text{L}$  WB漂洗液（请先检查是否已加入无水乙醇！）  
10,000 $\times$ g离心30 s，两次  
去残留乙醇：13,000 $\times$ g空甩2 min
- 洗脱：50-100  $\mu\text{L}$ 洗脱液EB（65-70 $^{\circ}\text{C}$  预热）  
室温静置3-5 min，13,000 $\times$ g离心1 min，可重复洗脱一次  
长期储存-20 $^{\circ}\text{C}$

## 08/相关产品

- AA1906 蛋白酶K (10 mg/mL)
- AA0801 SPARKeasy 超纯土壤基因组DNA快速提取试剂盒
- AC0801 SPARKeasy 土壤RNA提取试剂盒 (中量)
- AC0802 SPARKeasy 土壤RNA提取试剂盒

本产品仅用于科学研究!

Tel: 0531-82387577

Web: <http://www.sparkjade.com>

Support: [support@sparkjade.com](mailto:support@sparkjade.com)

