

版本号: DP250522

TIANMicrobe Magnetic Envir-DNA Kit

磁珠法环境微生物基因组DNA提取试剂盒

目录号: DP713

产品内容

产品组成		DP713 (96 preps)
DP 713	缓冲液SNA (Buffer SNA)	80 ml
	缓冲液SNE (Buffer SNE)	80 ml
	腐殖酸助沉剂CN (HA Removal Buffer CN)	30 ml
	缓冲液LB4A (Buffer LB4A)	40 ml
	去蛋白液W2 (Buffer W2)	160 ml
	漂洗液RW (Buffer RW)	40 ml
	洗脱缓冲液TB (Buffer TB)	15 ml
	洗脱缓冲液TE (Buffer TE)	15 ml
	RNA酶A (10 mg/ml) (RNaseA (10 mg/ml))	1 ml
OSE-TH-B08	磁珠悬浮液BE (100 mg/ml) (MagAttract Suspension BE (100 mg/ml))	2×1 ml
	环境微生物研磨预装管 (Envir-DNA Grinding Beads Tube)	2×48 管/包

备注: DP 713和OSE-TH-B08独立包装和储存。

储存条件

该试剂盒置于室温 (15-30℃) 干燥条件下可保存15个月。若溶液产生沉淀, 使用前可在37℃水浴中预热10 min以溶解沉淀, 不影响效果。

产品简介

本试剂盒采用独特的裂解液、结合特殊优化的高效腐殖酸助沉剂，可以从土壤、粪便、发酵产物、水体、池塘淤泥、海洋沉积物、肠道内容物等各种环境样本中，提取得到样本中的革兰氏阴性菌、革兰氏阳性菌、真菌等各种微生物基因组DNA。在研磨珠和均质仪的配套作用下，有效破碎环境样本中的各种微生物，保证提取基因组DNA的高效性和完整性。

使用本试剂盒提取的基因组DNA杂质少，完整性好，可直接用于PCR、建库及测序等分子生物学下游实验。

产品特点

快速简便：1 min快速去除腐殖酸。

高 纯 度：提取的DNA纯度高，可直接用于下游实验。

样本广泛：可适用于多种类型样本的微生物基因组DNA提取。

注意事项 请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项。

1. 新采集的样本会得到更高的得率，不同样本在采样前应先查阅相应的最佳保存条件。
2. 过量的DNA可能抑制下游PCR反应，遇到这种情况建议将DNA模板进行稀释后使用。
3. 腐殖酸助沉剂CN使用前需放置在2-8℃进行预冷，以达到其更优去除腐殖酸效果。
4. 本产品提供2种DNA洗脱缓冲液，洗脱缓冲液TB不含EDTA，洗脱缓冲液TE含EDTA。如需长时间存放，为尽可能减少提取得到的核酸降解，可使用含EDTA的洗脱缓冲液TE，但注意，EDTA会影响PCR、建库等下游实验。
5. 因环境样本复杂，通常杂质较多，提取的核酸浓度较低，长时间储存核酸可能会发生降解等，因此建议提取后尽快进行下游实验。

操作步骤

使用前请先在漂洗液RW中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶上标签。

1. 不同样本用量建议

- 1) 土壤类样本：各类土壤样本（壤土、花园土、农田土等普通土壤，沙土、深海淤泥、干盐地土等贫瘠土壤）均取250 mg；腐殖酸含量高的土壤（黑土、堆肥等）取150-200 mg。
- 2) 粪便类样本：小鼠、仓鼠等颗粒状粪便样本取大米粒大小2-3粒，约50-100 mg；猪牛羊粪便、家禽粪便、肠内容物（不含组织）等粪便类样本取50-100 mg；含醇类保存液保存的样本，取适量样本（干物质量不超过100 mg）高速离心后去除保存液。

注意：如土壤或粪便样本中杂质多且微生物含量丰富，可适当减少样本的上样量。否则可能会导致洗脱液中有不同程度的颜色残留。

- 3) 液体样本：如发酵液、窖池黄水、菌液、牛奶等，取适量体积样本，12,000 rpm (~13,400×g) 离心1-2 min，去除上清，收集沉淀量10-150 mg左右；或者当离心后没有显著沉淀时，可在吸弃上清时留存50-100 μ l液体。
- 4) 水体或空气滤膜：将滤膜剪碎，47 mm直径的滤膜剪碎后放入2 ml环境微生物研磨预装管中；直径为147 mm滤膜剪碎后可分装至2-3个2 ml环境微生物研磨预装管或者1个5 ml研磨管中。

注意：试剂盒中只标配96个环境微生物研磨预装管，如需更多2 ml环境微生物研磨预装管或需要5 ml研磨管，客户需自备。

- 5) 其他样本：组织类样本取10-50 mg、植物类样本取10-100 mg，剪碎后放入环境微生物研磨预装管中。

2. 样本处理

- 1) 根据操作步骤“1. 不同样本用量建议”，称取样本于环境微生物预装研磨管中。
- 2) 加入700 μ l缓冲液SNA或缓冲液SNE和10 μ l RNA酶A（10 mg/ml），涡旋混匀，使固体样品彻底打散、重悬于溶液中，用TGrinder H24组织研磨均质仪（客户自备，TIANGEN，目录号：OSE-TH-01）均质，均质程序为6 m/s的速度振荡20 sec，间隔20 sec，共6个循环。

注意：常见微生物含量丰富的土壤、粪便等样本，建议使用缓冲液SNA；微生物含量低的样本（如贫瘠土壤等）、吸水性强的样本（如干酒曲等）及对基因组条带完整性要求高时，建议使用缓冲液SNE。可参考以下表格：

环境样本		样本用量 建议	裂解液 建议	样本库信息				
土壤类	普通土壤	250 mg	SNA [®]	花园土	农田土	竹林土	池底淤泥	湖泊底泥
				酒糟	酒曲	窖泥		
	高腐殖酸土壤	150-200 mg	SNA	黑土	羊粪肥	鸡粪肥	蚯蚓粪肥	深海沉积物
	贫瘠土壤	250 mg	SNE	沙土	砂土	粘土	干盐地土壤	
				深井土	锡矿土	硫化物		
	其他难提土壤	250 mg	SNE	红土	大曲粉末	真菌基质		
粪便类	颗粒状粪便	50-100 mg (大 米粒大小2-3粒)	SNA	小鼠粪便	仓鼠粪便	大鼠粪便 [®]		
	硬块状粪便	50-100 mg	SNA	兔粪	牛粪	羊粪	猪粪	狗粪
	稀软粪便	50-100 mg	SNA	禽类粪便	大鼠肠 内容物	禽类肠 内容物	鱼虾肠 内容物	猪食糜
滤膜类		1-2张滤膜剪碎	SNA	水体滤膜	空气滤膜			
液体类		离心去上清, 收集沉淀量 10-150 mg	SNE	发酵液	窖池黄水	牛奶	酸奶	蜂蜜
				花蜜	叶表 冲洗物	含保存液 的样本		
其他样本	组织类	10-50 mg	SNE	昆虫	真菌子实体			
	植物类	10-100 mg	SNE	植物叶片	植物根系	玉米秸秆	麦皮	竹笋

3) 12,000 rpm (~13,400×g) 离心1 min, 转移上清 (约400-500 μl) 至1.5 ml离心管中。

4) 加入200 μl在2-8℃预冷好的腐殖酸助沉剂CN, 涡旋混匀3-5 sec, 12,000 rpm (~13,400×g) 离心1 min。

3. 核酸提取步骤 (手工操作步骤)

如需搭配高通量自动化仪器提取, 天根公司可提供整合方案, 或参考DP613和DP813。

1) 转移上清液500 μl至新的1.5 ml离心管, 加入350 μl缓冲液LB4A和20 μl磁珠悬浮液BE (100 mg/ml), 涡旋混匀后, 振荡混合溶液使磁珠与核酸孵育结合10 min (推荐使用TIANGEN, 目录号: OSE-VX-02, TGYrate Master涡旋混匀仪, 搭配OSE-VX-M131)。

注意: 磁珠悬浮液BE (100 mg/ml) 需在使用前振荡混匀1 min, 使磁珠 (固体部分) 彻底重悬, 以确保每次使用的磁珠悬浮液浓度均一。

- 2) 将离心管放置于磁力架上静置30 sec-1 min, 磁珠完全吸附后, 小心吸去液体。
- 3) 将离心管从磁力架上取下, 加入700 μ l 去蛋白液W2, 振荡混匀2 min。
- 4) 将离心管放置于磁力架上静置30 sec-1 min, 磁珠完全吸附后, 小心吸去液体。
- 5) 将离心管从磁力架上取下, 加入700 μ l 去蛋白液W2, 振荡混匀1 min。
- 6) 将离心管放置于磁力架上静置30 sec-1 min, 磁珠完全吸附后, 小心吸去液体。
- 7) 将离心管从磁力架上取下, 加入700 μ l 漂洗液RW (使用前请先检查是否已加入无水乙醇), 振荡混匀1 min。
- 8) 将离心管放置于磁力架上静置30 sec, 磁珠完全吸附后, 小心吸去液体。
- 9) 重复步骤7) 和8) 一次。
- 10) 瞬时离心, 将离心管于磁力架上, 吸取残留液体, 室温晾干3-5 min。

注意: 乙醇残留会抑制后续的酶反应, 所以晾干时要确保乙醇挥发干净。但也不要干燥太长时间, 以免难以洗脱DNA。避免出现磁珠干裂的过分干燥的情况, 此时洗脱效率会降低。

- 11) 将离心管从磁力架上取下, 加入100 μ l 洗脱缓冲液TB或洗脱缓冲液TE, 65°C振荡混匀5-10 min (推荐使用TIANGEN, 目录号: OSE-DB-03, TGrade Bath Shaker恒温振荡金属浴)。

注意: 洗脱缓冲液的选择请参考注意事项第4条。

- 12) 瞬时离心, 将离心管放置于磁力架上静置2 min, 磁珠完全吸附后, 小心将DNA溶液转移至一个新离心管中, 并于适当条件保存。

注意: 洗脱产物建议保存在-30~-15°C或者-90~-65°C。







TIANGEN官方微信，专业服务助力科研：

- 可视化操作指南
- 技术公开课合辑
- 全线产品查询
- 在线专家客服
- 微信直播课堂
- 最新优惠活动

浓缩国际权威精华， 铸就 TIANGEN 优秀品质！

TIANGEN 为您提供国际化标准的生物学产品和服务

- PCR、RT-PCR 系列
- 核酸 DNA、RNA 分离纯化系列
- DNA 分子量标准
- 克隆载体、感受态细胞
- 细胞生物学产品
- 蛋白分子量标准
- 蛋白质染色、检测及定量相关产品