



ANBIOSCI TECH LTD



PowerSoil® DNA Isolation kit

强力土壤®DNA 提取试剂盒

货号	提取次数
12888-50	50 次
12888-100	100 次

简介

PowerSoil® DNA Isolation Kit 包含了我们创新专利抑制因子去除技术® (IRT)，用于提取所有类型环境样品高质量 DNA。环境样品包括堆肥、底泥、粪肥等富含腐植酸的各种难提土样样品。提取出来的高质量 DNA 可直接进行 PCR 扩增。PCR 扩增结果证明提取到了多种微生物，其中包括细菌（如枯草芽孢杆菌、炭疽杆菌）、真菌（如酵母、霉菌）、藻类和放线菌（如链霉菌）。

操作预览

PowerSoil® DNA Isolation Kit 比 MOBIO 自家的 UltraClean® Soil DNA Isolation Kit 多了腐殖质/棕色物质去除过程。该处理方法有效去除所有类型土壤中的 PCR 抑制因子。环境样品加入到 Bead Beating tube 中快速充分均质化。细胞在机械研磨和化学试剂共同作用下裂解。总基因组 DNA 吸附到离心柱硅胶滤膜上。DNA 经过冲洗后从滤膜上洗脱下来。最终 DNA 可直接用于扩增等下游应用。

珠磨研磨

PowerSoil® DNA Isolation Kit 不需要使用高速度强力珠磨研磨设备。若目的微生物需要比涡旋仪还要强力的均质器才能提取得到，此试剂盒也可以用在 PowerLyzer™ 珠磨研磨机上。MO BIO 现在专门提供了 PowerLyzer™ PowerSoil® DNA Isolation Kit (货号：12855-50)，一款使用了适合强力珠磨研磨的研磨珠套管的土壤 DNA 提取试剂盒。

相关信息请浏览 <http://www.anbiosci.com/MBweibo/blog.htm> 文章：

http://www.anbiosci.com/MBweibo/Molecular_Biology_of_Soil_an_introduction.htm

http://www.anbiosci.com/MBweibo/DNA_Isolation_from_Soil_Part_I.htm

http://www.anbiosci.com/MBweibo/DNA_Isolation_from_Soil_Part_II+The_Chemistry.htm

能均质化所有类型样品



PowerLyzer™ 24

Bench Top Bead-Based Homogenizer

货号：13155

(<http://www.anbiosci.com/products/13155.htm>)



ANBIOSCI TECH LTD

PowerLyzer™ 24 Bench Top Bead-Based Homogenizer

PowerLyzer™ 24 Bench Top Bead-Based Homogenizer 大型珠磨研磨设备专门设计用于快速高效均质化所有类型生物样品。再不到 30 秒内同时处理 24 个 2ml 管。真正自动化处理，大幅减少样品处理时间。松针、种子、孢子、真菌垫和粘土等坚硬复杂样品都能轻松高效裂解。

可选高通量提取

MO BIO 提供了真空泵抽吸的操作说明，离心柱上 DNA 的绑定吸附、冲洗步骤的离心操作由真空抽吸替代。一次可同时处理 20 个样品。更高通量提取，可选择 MO BIO 的 PowerSoil® -htp 96 Well Soil DNA Isolation Kit。使用 96 孔板（13cm×8cm×5.5cm）离心机（2500g）和振荡器一次处理 2×96 个样。

相关产品	货号	数量
PowerMax® Soil DNA Isolation Kit	12988-10	10 Preps
PowerSoil®-htp 96Well Soil DNA Isolation Kit	12955-4	4×96 Preps
	12955-12	12×96 Preps
PowerVac™ Manifold	11991	1 manifold
PowerVac™ Mini System	11992	1 unit + 20 adapters
PowerVac™ Mini Spin Filter Adapters	11992-10	10 adapters
	11992-20	20 adapters

设备要求

微型离心机（10000g）

移液器（50 μl~500 μl）

Vortex-Genie®2 涡旋仪（MO BIO 货号#13111-V-220）

涡旋仪适配器（MO BIO 货号 13000-V1-24）

保存

组分室温（15-30℃）保存。

试剂盒组分

	货号：12888-50	货号：12888-100
组分	量	量
PowerBead Tubes (contain 750 μl solution)	50	100
PowerSoil®Solution C1	3.3ml	6.6ml
PowerSoil®Solution C2	14ml	28ml
PowerSoil®Solution C3	11ml	22ml
PowerSoil®Solution C4	72ml	144ml
PowerSoil®Solution C5	30ml	2×30ml
PowerSoil®Solution C6	6ml	12ml
PowerSoil®Spin Filters (units in 2 ml tubes)	50	100
PowerSoil 2 ml Collection Tubes	200	400

△实验前请先逐一检查试剂!



ANBIOSCI TECH LTD

PowerSoil[®] DNA Isolation Kit

Prepare Sample



- Add soil sample to PowerSoil[®] Bead Tube
- Add Solution C1
- Attach to Vortex Adapter
- Vortex

Centrifuge

Cell Lysis



- Add Solution C2
- Incubate at 4°C

Centrifuge

Inhibitor Removal Technology[®]



- Add Solution C3
- Incubate at 4°C

Centrifuge

Bind DNA



- Add Solution C4
- Load into Spin Filter

Centrifuge

Wash



- Wash with Solution C5

Centrifuge

Elute



- Elute with Solution C6

*Alternate Protocol
for PowerVac[™]
Mini Spin Filter
Adapter*

Vacuum



Centrifuge

Elute



- Elute with Solution C6



操作步骤

1、加入 0.25g 土壤样品到一个 **PowerBead Tubes** 中

这一步发生了什么：加入样品后，下一步就是研磨均质以及细胞裂解。**PowerBead Tube** 中含有的缓冲液可 (a) 有助散开土壤，(b) 初步溶解腐植酸。

2、轻轻涡旋混匀

这一步发生了什么：混匀分散开各组分。

3、检测 **Solution C1**。若出现沉淀，60℃水浴至全溶解

这一步发生了什么：**Solution C1** 含有 SDS 以及其它用于细胞裂解的试剂。SDS 作为去垢剂，能破坏细胞膜上的脂肪酸、脂质。温度过低时会产生沉淀。60℃孵育可重溶 SDS，并可趁热使用。

4、加入 60 μ l **Solution C1**，上下颠倒数次混匀

5、把 **PowerBead Tubes** 固定在涡旋仪适配器上，最大转速(3200rpm, 若涡旋仪达不到此速度, 可适当延长 5~10min) 涡旋连续振荡 10min (使用 24 头适配器同时处理 12 个样品, 涡旋时间延长 5-10min)。

注意：涡旋振荡步骤对于研磨均质和细胞裂解至关重要。步骤 1~4 的化学试剂作用，这一步引入机械作用。外形不规则而锋利的研磨珠随机碰撞，充分打开细胞膜释放细胞内容物。

这一步发生了什么：微生物细胞在化学（裂解缓冲液）和机械（涡旋振荡）力共同作用下崩解。许多类型微生物细胞只有在这种化学加珠研磨作用下才会裂解。使用涡旋仪适配器可提供相同的力矩和角度最大化研磨效果。避免使用胶带固定，以免震动过程中松脱影响研磨效果。

6、室温 10000g 离心 30s

7、转移上清至一个干净的 **2ml Collection Tube** (试剂盒提供) 中

注意：大约可获得 400-500 μ l 上清液。回收到的上清体积取决于土样的吸水性且不影响处理效果。上清可能颜色较深并含有少量土样，下面步骤可解决这两个问题。

8、加入 250 μ l **Solution C2** 到上清中，涡旋混匀 5s。4℃孵育 5min

这一步发生了什么：**Solution C2** 是 IRT (抑制因子去除技术) 重要组成之一。含有组分可沉淀那些会影响 DNA 纯度和下游实验的非 DNA 的有机、无机物质，如腐植酸、细胞碎片、蛋白质等。

9、室温 10000g 离心 1min

10、避开沉淀小珠，转移上清 \leq 600 μ l 到一个新的收集管中

这一步发生了什么：沉淀物含有细胞碎片、土壤、研磨珠以及腐植酸等。为了更高的 DNA 得率和纯度，尽量避免吸到沉淀物。

11、加入 200 μ l **Solution C3** 到上清中，涡旋混匀。4℃孵育 5min

这一步发生了什么：**Solution C3** 是另一个 IRT (抑制因子去除技术) 重要组成。含有组分可进一步沉淀那些会影响 DNA 纯度和下游实验的非 DNA 的有机、无机物质，如腐植酸、细胞碎片、蛋白质等。



ANBIOSCI TECH LTD

12、室温 10000g 离心 1min

13、避开沉淀小珠，转移上清 $\leq 750 \mu\text{l}$ 到一个新的收集管中

这一步发生了什么：沉淀物含有细胞碎片、土壤、研磨珠以及腐植酸等。为了更高的 DNA 得率和纯度，尽量避免吸到沉淀物。

14、Solution C4 使用前先摇匀。加入 $1200 \mu\text{l}$ **Solution C4** 到上清中，涡旋混匀 5s

这一步发生了什么：**Solution C4** 是一个高浓度盐溶液。此步为了调整 DNA 溶液的盐浓度。DNA 在高盐环境下可牢牢地吸附在硅胶滤膜上，大部分其它非 DNA 的有机无机成分不会吸附。但仍然会少量残留。

15、加载约 $675 \mu\text{l}$ 上清到 **Spin Filter** 中，室温 10000g 离心 1min。弃去滤液，继续加载 $675 \mu\text{l}$ 上清，室温 10000g 离心 1min。重复直至过滤完所有上清。

注意：每个样品共需加载 3 次。

这一步发生了什么：DNA 在高盐环境下选择性地吸附到硅胶滤膜上。

16、加入 $500 \mu\text{l}$ **Solution C5** 到 **Spin Filter** 中，室温 10000g 离心 30s

这一步发生了什么：含有酒精的冲洗缓冲液 **Solution C5**，可进一步去除滤膜上非 DNA 成分的盐份、腐植酸等杂质。

17、弃去上清

这一步发生了什么：滤液不含 DNA。

18、室温 10000g 离心 1min

这一步发生了什么：进一步去除残留 **Solution C5**（酒精冲洗液）。为避免残留的酒精成分影响 PCR、酶切、胶回收等下游实验，必须充分去除 **Solution C5**（可吹干）。

19、小心转移 **Spin filter** 到 **2ml Collection Tube**（试剂盒提供）中，尽量避免 **Solution C5** 污染

注意：极力避免酒精冲洗液污染。

20、加入 $100 \mu\text{l}$ **Solution C6** 到白色滤膜中心

注意：**Solution C6** 要加到滤膜中心，并保证整个薄膜能充分润湿。可选：无菌 DNA-Free PCR Grade water 货号#17000-10 也可适用于 DNA 洗脱。若担心 DNA 降解，可使用无菌 TE 缓冲液代替 C6 进行洗脱。

21、室温 10000g 离心 30s

22、弃去 **Spin Filter**。此时收集管中的 DNA 可直接用于下游实验，无需进一步纯化

建议 DNA 冷冻保存（ $-20^{\circ}\text{C} \sim -80^{\circ}\text{C}$ ）。C6 溶液不含 EDTA。

感谢选用 PowerSoil® DNA Isolation kit!



若使用 PowerVac™ Manifold 抽吸代替离心

每个样品使用一个 Spin Filter 离心管。保持 Spin Filter 安放在 2ml Collection Tube 中知道需要真空抽吸滤过。记号笔标记标注好 Collection Tube 顶部及 Spin Filter。若 Spin Filter 在过滤过程中堵塞，仍可以改为常规离心继续提取 DNA。

此操作说明书第四步需要外自备 100% 乙醇。

1、每一个样品需要安装一个铝质 PowerVac™ Mini Spin Filter Adapter (MO BIO 货号: 11992-10 或 11992-20) 到 manifold 的鲁尔接口上。轻轻用力安紧 Spin Filter。关闭 manifold 其它所有不用的接口。

注意: 铝质 PowerVac™ Mini Spin Filter Adapters 可重复使用。

2、加载 650 μ l 样品裂解物 (接上文步骤 14) 到 Spin Filter。

3、打开真空泵, 打开使用的端口的阀门。打开阀门是扶稳 Spin Filter, 保持直立。等待裂解物全部通过滤膜, 再加 650 μ l 裂解物。继续抽吸滤过。关闭阀门。

注意: 可关闭已抽滤的端口, 以提高其它端口压力, 加快抽滤速度。

4、加入 800 μ l 100% 乙醇到 Spin Filter。扶稳 Spin Filter, 打开阀门抽滤。抽滤完成后关闭阀门。

5、每个 Spin Filter 加入 500 μ l C5 溶液。打开阀门抽滤。当所有 C5 滤完后, 继续抽滤 1 min, 抽干滤膜。关闭所有端口。

6、关闭真空泵。打开一个未使用的端口释放 manifold 的压力。若 20 个端口都在使用, 断开真空泵连接。进入下一步操作前确保真空压力已释放。必须先关闭真空泵, 防止滤液倒流。

7、拿下 Spin Filter, 放回到原来标记的相应 2ml Collection Tube 中。10000g 离心 1 min 以充分干燥滤膜。

8、把 Spin Filter 转移到一个新的 2ml Collection Tube (试剂盒提供) 中, 加入 100 μ l C6 到白色滤膜中心。可选: 可适用无菌 DNA-Free Water 洗脱 DNA (货号: 17000-10)。

9、室温 10000g 离心 30s。

10、弃去 Spin Filter。此时滤液中的 DNA 可直接用于下游实验, 无需进一步处理。

疑点难点

加样量

此试剂盒的设计加样量是 0.25g。不同土样类型加样量请参照下表:

土样类型	建议最大加样量 (g)
干沙土 Dry sandy soil	0.5
干粘土 Dry clay	0.25
湿粘土 Wet clay	0.25



ANBIOSCI TECH LTD

陶土 Potting Soil	0.1
底泥 Sediment	0.25
壤土 Loam	0.25
泥炭土 Peat moss	0.1
肥沃农田土壤 Rich farm soil	0.25
改良土 Amended soil	0.15
堆肥 Compost samples	0.1

* 5g 以上土壤 DNA 大量提取，建议用 PowerMax Soil（货号：12988-10）

湿土：

若土样含水量较高，可先行室温 10000g 离心 30s，尽量去除上清。然后转入 PowerBead Tube 进入下一步处理。

DNA 扩增失败

- 请同时使用电泳凝胶法和分光光度法检测 DNA 得率。模板 DNA 浓度太高会抑制 PCR 扩增。
- 通常用 PowerSoil DNA 提取的 DNA 无需稀释模板 DNA，若扩增失败，可尝试总 DNA。
- 若经过上述努力 PCR 扩增仍失败，请优化 PCR 反应条件、引物选择。

最终 DNA 呈棕色：

我们从未遇到使用 PowerSoil 的最终 DNA 呈棕色。若遇到此情况，请与我们联系。

可选裂解方法（真菌、孢子样品 DNA 提取）：

- 加入 C1 溶液后，涡旋 3~4s 混匀，70℃ 孵育 5min。涡旋 3~3s，70℃ 再孵育 5min。涡旋 3~4s。此可选步骤能减少 DNA 被剪切程度同时也会一定程度上降低得率。
- 若细胞非常难裂解，可加入 C1 溶液后 70℃ 孵育 10min，然后进行第五步继续操作。

DNA 浓缩

最终 DNA 体积为 100 μl。要浓缩 DNA 可加入 4 μl 5M NaCl，上下颠倒 3-5 次混匀。然后加入 200 μl 100% 冷乙醇，上下颠倒 3-5 次混匀。室温 10000g 离心 5s。弃去所有上清。用真空离心蒸发器、干燥器或冷干机除去残余乙醇。用去离子水或灭菌 10mM Tris 重悬 DNA。

DNA 保存

洗脱到 C6 溶液（10mM Tris）的 DNA 必须保存在 -20℃~ -80℃ 防止降解。为了延长保存时间，建议把 DNA 等分后 -80℃ 保存。你也可以用 TE 缓冲液洗脱 DNA，而 EDTA 会抑制下游 PCR 等酶反应，不建议采用。



ANBIOSCI TECH LTD

推荐产品

更全的产品介绍，请查看 www.anbiosci.com

名称	货号	提取次数
PowerSoil®-htp 96 Well Soil DNA Isolation Kit	12955-4	4×96 次
	12955-12	12×96 次
PowerLyzer™ PowerSoil® DNA Isolation Kit	12855-50	50 次
	12855-100	100 次
RNA PowerSoil® Total RNA Isolation Kit	12866-25	25 次
PowerMax® Soil DNA Isolation Kit	12988-10	10 次
PowerMag® Soil DNA Isolation Kit (Optimized for KingFisher®)	27000-4-KF	4×96 次
PowerMag® Soil DNA Isolation Kit (Optimized for epMotion®)	27100-4-EP	4×96 次
PowerClean® DNA Clean-up Kit	12877-50	50 次

深圳市安必胜科技有限公司

更多实用技巧请参阅 <http://www.anbiosci.com/MBweibo/blog.htm>