



ANBIOSCI TECH LTD



PowerMax® Soil DNA Isolation kit

强力土壤 DNA 大量提取试剂盒

货号	提取次数
12988-10	10 次

简介

PowerMax® Soil DNA Isolation Kit 结合了我们专利的抑制因子去除技术 (IRT)，给研究者提供一种创新有效的方法提取环境样品基因组 DNA。过去由于含有大量腐植酸类抑制的复杂样品都可以用这款试剂盒轻松搞定。从各种土壤类型中提取的总 DNA，已经过细菌（枯草芽孢杆菌、炭疽杆菌）、真菌（酵母、霉菌）和放线菌（链霉菌）等的 PCR 专用引物成功扩增。

PowerMax® Soil DNA Isolation Kit 与 MOBIO 的另一款试剂盒 UltraClean® Mega Soil DNA Isolation Kit 不同之处在于，前者有专门抑制因子/棕色物质去除的步骤。此步骤对于所有类型复杂土壤样品，包括堆肥、沉积物和底泥都能高效去除 PCR 抑制因子。

操作预览

环境样品加入到试剂盒提供的研磨珠套管中进行快速研磨均质化。在化学裂解缓冲液和机械作用下，细胞崩解，释放出 DNA。提取到的基因组 DNA 选择性地吸附到硅胶滤膜上，冲洗后洗脱。最终 DNA 可直接用于 PCR 等下游实验。

相关产品	货号	提取次数
PowerSoil® DNA Isolation Kit	12888-50	50 preps
	12888-100	100 preps
UltraClean® PCR Clean-Up Kit	12500-50	50 preps
	12500-100	100 preps
	12500-250	250 preps

设备要求

50mlTube 管离心机 (2500g)

移液器 (1ml – 10ml)

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

涡旋仪适配器 (MO BIO 货号#13000-V1-50)

保存

组分室温 (15-30℃) 保存。



ANBIOSCI TECH LTD

试剂盒组分

	货号: 12988-10
组分	量
PowerMax® Soil PowerBead Tubes	10
PowerMax® Soil PowerBead Solution	165ml
PowerMax® Soil Solution C1	14ml
PowerMax® Soil Solution C2	55ml
PowerMax® Soil Solution C3	44ml
PowerMax® Soil Solution C4	330ml
PowerMax® Soil Solution C5	4 × 30ml
PowerMax® Soil Solution C6	55ml
PowerMax® Soil Spin Filters (units in 50ml tubes)	10
PowerMax® Soil Collection Tubes (50 ml)	40

△实验前请先逐一检查试剂!

保存

组分室温 (15-30℃) 保存。

操作步骤

- 1、往 **PowerMax® Bead Tube** 中加入 15ml **PowerBead Solution**。此组合命名为 **PowerMax® Bead Solution Tubes**。
- 2、加入不多于 10g 土样到 **PowerMax® Bead Solution Tubes** 中。快速涡旋振荡 1min 混匀。**注意**: 加样量请查询下文“疑难点”。

这一步发生了什么: 土样类型各异, 在加样前最好先弄清楚该土样类型适合加多少量。样品加入到 **PowerMax® Bead Solution Tubes** 后, 下一步就是细胞裂解了。PowerMax® Bead Solution Tubes 中含有的缓冲液可以 (a) 分散土壤样品, (b) 初步溶解腐植酸, (c) 保护核酸

- 3、检测 **C1 溶液**。若出现沉淀, 60℃水浴至全溶解。加 1.2ml **C1 溶液**到 **PowerMax® Bead Solution Tubes** 中, 快速涡旋 30s 混匀。

这一步发生了什么: C1 溶液含有 SDS 以及其它用于细胞裂解的试剂。去垢剂 SDS 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、把 **PowerMax® Bead 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。

这一步发生了什么: 涡旋振荡步骤对于研磨均质和细胞理解至关重要。步骤 1~3 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。



ANBIOSCI TECH LTD

可选：对于难提取样品，可先 65℃ 水浴 10min，然后最大转速涡旋振荡延长至 30min。

5、室温 2500g 离心 3min。

6、转移上清至一个干净的 **Collection Tube** 中。

注意：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。

7、加入 5ml **C2 溶液**到上清中，涡旋混匀 5s。4℃ 孵育 10min。

这一步发生了什么：**C2 溶液**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。

8、室温 2500g 离心 4min。

9、避开沉淀小珠，转移上清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。

10、加入 4ml **C3 溶液**到上清中，涡旋混匀 5s。4℃ 孵育 10min。

这一步发生了什么：**C3 溶液**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。

11、室温 2500g 离心 4min

12、避开沉淀小珠，转移上清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。

13、**C4 溶液**使用前先摇匀。加入 30ml **C4 溶液**到上清中，涡旋混匀 5s。

这一步发生了什么：**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。

14、把从 13 步获得的土清加满 **Spin Filter**，室温 2500g 离心 2min。弃去滤液，再次加满上清，室温 2500g 离心 3min。重复直到过滤完所有上清。

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。

15、加入 10ml **C5** 到 **Spin Filter** 中，室温 2500g 离心 3min。弃去滤液。

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

16、室温 2500g 离心 5min。

这一步发生了什么：滤液不含 DNA。进一步去除残留 **C5 溶液**（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 **C5 溶液**（可吹干）。



ANBIOSCI TECH LTD

17、小心转移 **Spin Filter** 到 2ml 收集管中，尽量避免 C5 溶液污染。

注意：极力避免酒精冲洗液污染。

18、加入 5ml C6 溶液到白色滤膜中心。室温 2500g 离心 3min.

注意：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。

19、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℃~-80℃）。C6 溶液不含 EDTA。

感谢选用 **PowerMax® Soil DNA Isolation kit** !

深圳市安必胜科技有限公司



ANBIOSCI TECH LTD

疑点难点

加样量

不同土样类型加样量不一样。此试剂盒设计的经典加样量是 5g。干土最少可只加 1g 样，湿土略多（最多 10g）。植物根际土和陶土混合物，建议加样 2.5g，堆肥可加样 5g。砂土最多一次可加样 10g。

湿土

若土样含水量较高，可先行于灭菌 Tube 室温 2500g 离心 5min，尽量去除上清。然后转入 PowerMax® Bead Tube 进入下一步处理。

最终 DNA 呈棕色

我们从未遇到使用 PowerMax Soil 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 5s。此可选步骤能增加 DNA 得率，但同时会降低 DNA 完整性。
- 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。

浓缩 DNA

最终 DNA 体积为 5ml。要浓缩 DNA 可加入 0.2ml 5M NaCl，上下颠倒 3-5 次混匀。然后加入 10.4ml 100% 冷乙醇，上下颠倒 3-5 次混匀。室温 2500g 离心 30min。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。

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