

Legenomics
利贞生物

FastLEE® DNA Kit For Soil

产品使用说明书

PRODUCT
INSTRUCTION MANUAL

DIRECTORY

目录 DIRECTORY

01/产品概述	1
02/产品组分	1
03/保存条件	1
04/自备材料	1
05/注意事项	2
06/实验流程	2
07/常见问题与解决方案	3

01/产品概述

本试剂盒适用于从不同类型土壤样品中提取基因组 DNA 供 PCR 使用，包括革兰氏阴性菌和革兰氏阳性菌（如大肠杆菌，芽孢杆菌）、真菌（如酵母菌，霉菌）、藻类、放线菌（如链霉菌）和线虫等，在不到 30 min 内，快速 DNA 提取方法排除使用有害的有机溶剂，如苯酚和氯仿。分离的 DNA 用于多种下游应用，分离的 DNA 适用于多种下游应用，包括 PCR、Real-Time PCR、宏基因组文库构建、芯片分析等。特有的腐殖酸去除技术能够最大程度的去除 PCR 抑制剂，减少杂质对下游实验的干扰。

02/产品组分

组分	LEE87-01 (50 rxn)
Hard Bead Tube	50 pcs
Spin Column	50 pcs
Catch tube	50 pcs
1.5 mL tube	50 pcs
LD1 Buffer	60 mL
LD2 Buffer	15 mL
Binding Matrix	60 mL
LD3 Buffer	30 mL
Wash Buffer	10 mL
DE Solution	8 mL

03/保存条件

15-30℃ 保存，室温运输；

04/自备材料

无水乙醇；

Nuclease-free 枪头；

涡旋振荡器；

高速离心机；

2 mL 灭菌离心管。

05/注意事项

1. 使用本试剂盒时，请做好防护措施，穿戴实验服、一次性乳胶手套和口罩等。
2. 病原样本处理需在生物安全柜中进行。
3. 请使用 Nuclease-free 枪头、Nuclease-free 离心管以避免外源微生物和外源核酸污染。
4. 首次使用本试剂盒前，请参考瓶身标签向 Wash Buffer 中加入 40 mL 无水乙醇，并进行标注。

06/实验流程

1. 在 2 mL Hard bead tube 中加入低于 250 mg 土壤样品。
▲ 推荐最多加入 250 mg 土壤样品，含水量比较高的土壤或者碎屑多的土壤可通过离心去上清增加提取效果。
2. 在 2 mL Hard bead tube 中加入 800 μ L LD1 Buffer。
3. 将样品置于涡旋震荡仪器上，以最大速度震荡 10 min。
4. 室温 15,000 x g 离心 1 min。
5. 小心地吸取上清液转移至新的 2.0 mL 离心管。
6. 吸取 200 μ L LD2 Buffer 加入到上清液管中，涡旋 5 s。室温 15,000 x g 离心 1 min。
7. 重悬 Binding Matrix 溶液，吸取 900 μ L 重悬液到一个新的 2.0 mL 离心管中。吸取步骤 6 的所得上清液 500-700 μ L 至已添加 Binding Matrix 重悬溶液的 2.0 mL 离心管中，轻柔翻转混匀 3-5 min。
8. 转移 750 μ L 悬浮液至 Spin Column 中，室温 15,000 x g 离心 1 min，弃去收集管中的废液。
9. 将管中剩余的悬浮液转移到 Spin Column 中，室温 15,000 x g 离心 1 min，弃去废液。

10. 向 Spin Column 中加入 500 μL LD3 Buffer , 室温 15,000 x g 离心 1 min, 弃去收集管中的废液。

11. 向 Spin Column 中加入 500 μL Wash Buffer , 并使用剪去尖端的移液枪枪头轻柔重悬颗粒。室温 15,000 x g 离心 1 min, 弃去收集管中的废液。

▲使用前确保 Wash Buffer 溶液中已加入乙醇。在 Wash Buffer 溶液中加入 40 mL 100% 的乙醇, 混匀。在瓶子上做好标记, 密闭储存于室温。

12. 室温 15,000 x g 空离 Spin Column 2 min, 去除残留的乙醇并晾干样本。

13. 弃去收集管, 将 Spin Column 装入干净配套的 1.5 mL 离心管, 加入 50-100 μL 的 DE Solution , 不要涡旋!

▲为了避免过度稀释纯化出的 DNA, 请尽量减少 DES 溶液的量

▲55 °C 水浴孵育 5min 能提高纯化产物的得率

14. 室温 15,000 x g, 离心 2 min。1.5 mL 离心管中液体即为洗脱 DNA, 可应用于下游实验, 长期保存请置于 -20 °C, 避免反复冻融。

07/常见问题与解决方案

湿土:

若土壤含水量较高, 可先行室温 10,000 x g 离心 30 s, 尽量去除上清, 然后转入 Hard bead tube 进入下一步处理。

添加 Binding Matrix 后充分混匀, 适当增加混匀时间至 10 min。

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 FastLee® DNA Kit 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。

