

# SPINeasy DNA Kit for Soil

Cat. No: 116530050 (50 preps) & 116530000 (5 preps)



## 퀵프로토콜 Revision 1.0 (May 2020)

### 고객 준비 제품

- 2ml microcentrifuge tube X 100 개 (샘플 kit의 경우 2ml tube X 10개)
- Bead homogenizer (예, FastPrep) 혹은 vortex (adapter 포함)
- 원심분리기 (14,000 x g 또는 maximum speed)
- Water bath or heat block (Elution buffer warming 목적)
- Absolute ethanol

### 실험 전 체크

- Binding Buffer S** - absolute ethanol 35ml 을 넣고 bottle 에 표기 (샘플 kit의 경우 3.5ml)
- Wash Buffer S** - absolute ethanol 50ml 을 넣고 bottle에 표기 (샘플 kit의 경우 5ml)

Lyse

- Lyising Matrix E tube** 에 100-500 mg의 soil 샘플 첨가
- 샘플에  **Lysis Buffer S1 980 ul**  
 **Lysis Buffer S2 120 ul**  
 **RNase A solution 10 ul** } 첨가 후 vortex로 mix
- Bead homogenizer (Bead beater)를 이용하여 샘플 파쇄 진행
  - FastPrep 장비보유시 세팅조건: 속도 6.0 m/s, 시간 20초
  - Beads Beater 미보유시 Vortex 사용 : full speed에서 10 분간 vortexing
- 원심분리 (14,000 x g, 5 min)

Purify

- 상층액을 깨끗한 2ml microcentrifuge tube로 조심스럽게 transfer (별도 준비)
- 상층액에  **Inhibitor Removal S 250 ul**을 첨가 후 10회 shaking
- 원심분리 (14,000 x g, 10 min)

Bind

- 상층액 900 ul 를 새 2ml tube로 transfer (별도 준비)
- Binding Buffer S 900 ul** 를 transfer 된 상층액에 추가 후 mix
- Mixture 800 ul를  **Column S1(2.0ml collection tube에 장착된)** 로 transfer
- 원심분리 (14,000 x g, 1 min) 후 collection tube의 용액을 비우고 tube는 재사용. 위 과정을 1회 반복 후 남은 용액은 버림

Wash

- Wash Buffer S 500ul** 를 column에 첨가 후 원심분리 (14,000 x g, 1 min). Collection tube 용액을 비우고 wash 과정 반복
- 용액 추가 없이 원심분리 (14,000 x g, 2 min)하여 column을 완전히 건조

Dry

- Collection tube는 버리고, column을 1.5ml collection tube에 장착
- 실온에서 air dry 5분

Elute

- 기다리는 동안 DES buffer를 55°C 로 heating 진행 (elution 효율 향상)
- Pre-heated DES buffer 100 ul**를 column의 중앙에 넣고, 원심분리 (14,000 x g, 1 min) 하여 DNA elution
- Eluted DNA는 사용할 때까지 4°C 보관 (장기 보관 시 -20°C 보관)