

# 操作手册

## 土壤/粪便 DNA 小量提取试剂盒

Catalog No. TD601-50 (50 次反应)

### Highlights

- 可在 20 分钟内快速从土壤，粪便等样品中提取到微生物的基因组 DNA。
- 获得的基因组 DNA 产量高、纯度好，可以直接用于酶切、PCR、测序等分子生物学实验。
- 无需使用蛋白酶 K 和其它有机变性剂。
- 此产品仅供科研使用。

## 产品组成:

试剂盒组成	保存	50 次
裂解管	室温	50 个
裂解液	室温	40 ml
基因组 DNA 裂解液	室温	100ml
基因组 DNA 洗涤液 1	室温	15 ml
基因组 DNA 洗涤液 2	室温	50 ml
基因组 DNA 洗脱液	室温	20 ml
抑制物去除液	室温	30 ml
3 号柱 F	室温	50 个
2 号柱 F	室温	50 个
抑制物去除柱	室温	50 个
收集管 (2ml)	室温	200 个

Note –售出后一年内产品质量是可以保证。试剂已经过大量的常规检测来保证其可操作性。此产品仅供研究并且需要由专业人员来使用。试剂盒中的部分试剂是有刺激性的。请带好手套和防护眼镜。

## 注意事项:

1. 环境温度低时基因组 DNA 裂解液或者基因组 DNA 洗涤液 1 可能出现析出和沉淀，可以在 37°C 水浴几分钟帮助重新溶解，**恢复澄清透明后冷却到室温**即可使用。

## 特性:

- **样品:** 可有效的从 150mg 以内的哺乳动物粪便或 250mg 以内土壤中有效的提取到细菌，真菌，病毒，线粒体和宿主 DNA.
- **DNA 纯度:** 获得的基因组 DNA 产量高、纯度好，可以直接用 PCR，高通量测序等各种分子生物学实验。
- **基因组 DNA 大小:** 一般经过震荡后，可回收到 15-20 kb 大小左右的基因组 DNA。
- **基因组 DNA 回收情况:** 可从 100 $\mu$ l (最少 50 $\mu$ l) 洗脱液中可回收到 25 $\mu$ g 左右的基因组 DNA。

- **操作温度:** 室温 (15-30°C)。

## **操作步骤:**

可选步骤: 添加  $\beta$  巯基乙醇到 DNA 结合液中, 终浓度为 0.5% 例如: 500 $\mu$ l 到 100ml 的基因组 DNA 裂解液中。

1. 直接添加 150mg 以内的哺乳动物粪便或 250mg 以内土壤样品到裂解管中, 然后添加 750 $\mu$ l 的裂解液到裂解管中, 在涡旋仪上最大速下振荡 5 分钟以上混匀。(如果使用高频振荡器时间可以适当缩短, 推荐使用我公司高频破碎仪 TI2019)
2. 将裂解管放到离心机里, 在  $\geq 10,000 \times g$  下离心 1 分钟。
3. 将上一步所得上清 400 $\mu$ l 加到 3 号柱 F 中, 3 号柱 F 套在一个收集管里, 在 8,000  $\times g$  的离心力下离心 1 分钟。丢弃过滤柱。
4. 添加 1200 $\mu$ l 的基因组 DNA 裂解液到上一步的收集管中充分混匀。
5. 将 2 号柱套在一个新的收集管里。
6. 从步骤 4 中吸取 800 $\mu$ l 混合液加到 2 号柱中, 在 10,000  $\times g$  下离心 1 分钟, 倒掉收集管中废液。
7. 重复步骤 6。
8. 2 号柱套在一个新的收集管内, 添加 200 $\mu$ l 的基因组 DNA 洗涤液 1 到 2 号柱中, 在  $\geq 10,000 \times g$  下离心 1 分钟。无需倒掉收集管中的废液, 即可直接进行下一步。
9. 添加 500 $\mu$ l 的基因组 DNA 洗涤液 2 到 2 号柱中, 在  $\geq 10,000 \times g$  下离心 1 分钟。

**可选步骤:** 将收集管中的废液倒掉, 并将 2 号柱套回收集管中, 在  $\geq 10,000 \times g$  下额外离心 2 分钟, 尽量除去洗涤液, 以免洗涤液中残留乙醇抑制下游反应。

10. 将 2 号柱移至干净的 1.5ml 离心管中直接添加  $\geq 50\mu$ l 的基因组 DNA 洗脱液到柱基质上 (洗脱液事先在 65-70°C 水浴中预热效果更好), 室温下放置 2-5 分钟, 在  $\geq 10,000 \times g$  下离心 1 分钟来洗脱基因组 DNA。

11. 将抑制物去除柱套在一个收集管内，添加600 $\mu$ l的抑制物去除液，在 $\geq 8,000 \times g$ 下离心3分钟。
12. 将洗脱的基因组DNA放入制备好的抑制物去除柱内，抑制物去除柱套在一个干净的1.5ml离心管内，并在16,000  $\times g$ 下离心3分钟，得到的DNA可进行后续PCR等试验。