

# 操作手册

## 土壤/粪便 DNA 提取试剂盒（2x 96 孔板）

Catalog No. TD611 (2X96 次反应)

### Highlights

- 可在 50 分钟内快速从 96 个土壤，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。

## 产品组成:

试剂盒组成	保存	2 x 96 次
96 孔裂解板	室温	2 个
裂解液	室温	2 x 40 ml
基因组 DNA 裂解液	室温	200ml
基因组 DNA 洗涤液 1	室温	60 ml
基因组 DNA 洗涤液 2	室温	100 ml
基因组 DNA 洗脱液	室温	2x10 ml
抑制物去除液	室温	2x30 ml
96 孔深孔板	室温	2 个
96 孔结合板	室温	2 个
96 孔抑制物去除板	室温	2 个
96 孔收集板	室温	2 个
96 孔洗脱板	室温	6 个
封板膜	室温	4 张

**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 80mg 以内的哺乳动物粪便或 135mg 以内土壤中有有效的提取到细菌，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, 可回收得到 40 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) 洗脱液中可回收得到 5 $\mu$ g 左右的基因组 DNA。
- **操作温度:** 室温 (15-30 $^{\circ}$ 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: 250 $\mu$ l 到 50ml 的基因组 DNA 裂解液中。

1. 直接添加 80mg 以内的哺乳动物粪便或 135mg 以内土壤样品到 96 孔裂解板中, 然后添加 400 $\mu$ l 的裂解液到 96 孔裂解板的每个孔中, 盖紧盖子, 在 96 孔破碎仪上振荡, 直到样品完全裂解。(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)
2. 将 96 孔裂解板放到离心机里, 在  $\geq 3,000 \times g$  下离心 5 分钟。
3. 将上一步所得上清 250 $\mu$ l 加到 96 孔深孔板中
4. 结合:

粪便和非土壤样品	土壤样品
添加 750 $\mu$ l 的基因组裂解液到上一步的 96 孔深孔板中。	添加 500 $\mu$ l 的基因组裂解液和 250 $\mu$ l 的 95% 无水乙醇到上一步的 96 孔深孔板中。

贴上封板膜, 涡旋振荡 2 分钟, 在  $\geq 3,000 \times g$  下 (最大 5, 000  $\times g$ ) 离心 5 分钟。

5. 揭开封板膜转移 500 $\mu$ l 的上清液到 96 孔结合板的孔中。将 96 孔结合板放到 96 孔收集板上, 将组合套装在  $\geq 3,000 \times g$  下 (最大 5, 000  $\times g$ ) 离心 5 分钟。
6. 倒掉滤出液, 然后重复步骤 5。
7. 添加 200 $\mu$ l 的基因组 DNA 洗涤液 1 到 96 孔结合板的孔中。将 96 孔结合板放到 96 孔收集板上, 将组合套装在  $\geq 3,000 \times g$  下 (最大 5, 000  $\times g$ ) 离心 5 分钟。
8. 添加 500 $\mu$ l 的基因组 DNA 洗涤液 2 到 96 孔结合板的孔中。将 96 孔结合板放到 96 孔收集板上, 将组合套装在  $\geq 3,000 \times g$  下离心 5 分钟。
9. 96 孔抑制物去除板需要提前制备好, 将 96 孔抑制物去除板放到 96 孔洗脱板上, 通过杵破封板膜在每个孔中添加 150 $\mu$ l 的抑制物去除液, 室温下放置 5 分钟, 将组合套装在  $\geq 3,500 \times g$  下离心 5 分钟。

10. 将 96 孔结合板放到制备好的 96 孔抑制物去除板上，然后在 96 孔抑制物去除板下面套上一个新的 96 孔洗脱板，（总共是 3 个板子的组合套装）
11. 直接添加 100 $\mu$ l 的基因组 DNA 洗脱液到组合套装最上面的 96 孔结合板的孔中，将 3 个 96 孔板的组合套装在  $\geq 3,500 \times g$  下离心 3 分钟。
12. 洗脱下来的 DNA 可马上使用或者贴上封板膜放到冰箱里储存。