

# Biomarker Soil Genomic DNA Kit (珠磨法)

## 组成成分

Kit Contents	Storage	50 Preps
Bead Tube	RT	50
Sodium Phosphate Buffer	RT	50ml
MT Buffer	RT	6ml
PPS Solution	RT	13ml
IRS Solution	RT	15ml
PQ Solution	RT	35ml Add indicated ethanol before first use
Buffer WB	RT	15ml Add indicated ethanol before first use
Elution Buffer	RT	15ml
DNA Bind Columns	RT	50

- 本试剂盒可在室温储存9个月不会影响使用效果

## 说明

使用Biomarker Soil Genomic DNA Kit, 可以在40mins内快速、有效地从土壤等环境样品中直接分离出纯度较高且满足建库测序的高质量基因组DNA。使用类似MP的FastPrep<sup>®</sup>珠磨设备进行研磨混匀处理, 可在40s内将土壤微生物细胞进行裂解。将样本放置于含有陶瓷与硅颗粒混合物的2.0ml研磨管(3种研磨珠混合), 这样在处理时可有效裂解所有土壤微生物的细胞, 包括真菌孢子和内生孢子、革兰氏阳性细菌、酵母、藻类、线虫和真菌。

该试剂盒采用一种全新的、独特的方法来去除样本中高腐殖酸对后续实验的影响, 包括一些难处理的环境样本类型, 如堆肥、沉积物和粪肥。利用此方法分离出的DNA纯度高, 适用于下游PCR检测实验。通过PCR实验, 可分析检测各种环境样本微生物, 包括细菌(如枯草芽孢杆菌、炭疽芽孢杆菌)、真菌(如酵母、霉菌)、藻类和放线菌。

## 使用前注意事项

1. 取250-500mg土壤样品加入研磨管。
2. 往研磨管中加入980ul Sodium Phosphate缓冲液, 震荡混匀, 再加入120ul的MT缓冲液。  
注意: 使用MT缓冲液前先进行检查, 如果MT缓冲液中有沉淀, 可将其加热至60°C直至溶解后使用。
3. 将FastPrep<sup>®</sup>样品快速制备仪速度参数设置为6.0, 匀质化震荡处理40s。
4. 室温12,000 x g, 离心5分钟。
5. 将上清液转移到干净的2.0 ml离心管中。加入250ul PPS溶液, 颠倒混匀10次左右(使混合液充分混匀), 再4°C孵育5分钟。
6. 室温10,000 x g离心3分钟, 将上清液(体积不要超过900ul)转移至干净的2.0 ml离心管。
7. 加入300μl IRS溶液(步骤6体积的1/3), 短暂涡旋混匀后, 4°C孵育5分钟。

## 实验操作流程

8. 室温10000 x g离心1分钟, 将上清液转移至干净的5.0 ml离心管 (注意不要吸取到下层杂质)。

9. 在取出的上清液中加入1.5倍体积的PQ溶液, 用移液器吹吸混匀 (或颠倒混匀)。

示例: 如1100 $\mu$ l步骤8溶解产物中需添加1650 $\mu$ l PQ溶液。如果回收的上清液较少, 则相应减少PQ溶液的加入量。加入乙醇后可能会形成沉淀, 但这不会影响整个过程。

注意: 确保PQ溶液中已经加入无水乙醇。

注意: 将PQ溶液加入上清液后, 需要立即混匀。

10. 取小于700 $\mu$ l混合液加入DNA吸附柱, 室温10,000 x g离心1分钟, 弃废液。重复步骤10直至所有混合液全部转入DNA吸附柱。

注意: 每一样品大约需要4-5次回收操作。

11加入600 $\mu$ l WB缓冲液, 室温10,000 x g离心30s。弃废液。再加入600 $\mu$ lWB 缓冲液进行二次洗涤, 弃废液。

注意: 确保WB溶液中已经加入无水乙醇。

12. 将DNA吸附柱重新放回废液收集管上, 室温13,000 x g 空转离心2分钟 (确保将吸附柱中残留的废液全部去除干净)。

13. 小心将DNA吸附柱置于干净的1.5ml离心管中。避免溅入任何缓冲液。往柱子滤膜中间加入100  $\mu$ l EB (可选: 提前70 -90°C水浴预热可增加DNA的回收效率)。室温孵育3-5分钟, 然后, 13000 x g离心1分钟, 以洗脱下DNA。

注意: 一定范围内, 使用更少一些的EB, 可回收相对更高浓度的DNA, EB最少使用量30 $\mu$ l, 建议使用量30-100 $\mu$ l。

可选: 将洗脱液重新加入过滤柱中进行二次洗脱, DNA浓度可提升10-15%。

## ◆ 备注

1. PQ Solution第一次使用前加入70ml的无水乙醇;

2. Buffer WB第一次使用前加入60ml的的无水乙醇;

3. 实验室如果没有FastPrep®样品快速制备仪的情况下, 可以使用组织研磨仪常温混匀, 转速1800rpm混匀2min。