

版本号:260205

FastBeat Enhanced Soil DNA Pro Kit (Bead Beating)**FastBeat 增强型土壤 DNA 提取试剂盒 (珠磨法)**

目录号: DN48

❖ 适用范围

适用于草坪土、花坛土、花盆土、农田土、山林土、淤泥、水样、红土、黑土、粉尘等多类土壤环境样本的提取。

❖ 试剂盒组成、储存、稳定性:

试剂盒组成	保存	50 次 (DN4801)	100 次 (DN4802)
研磨管	室温	50 个	100 个
平衡液	室温	5 ml	10 ml
裂解液 SPB	室温	50 ml	100 ml
缓冲液 MT	室温	6 ml	12 ml
缓冲液 SR	室温	15 ml	30 ml
缓冲液 GH	室温	15 ml	30 ml
		第一次使用前按瓶子标签指示加 异丙醇	
漂洗液 WB	室温	13 ml	25 ml
		第一次使用前按瓶子标签指示加无水乙醇	
洗脱缓冲液 EB	室温	10 ml	10 ml
吸附柱 AC (收集管)	室温	50 个	100 个

本试剂盒全部组分常温运输, 收到后按指定温度储存 12 个月不影响使用效果。

储存事项:

1. 所有的溶液应该是澄清的, 如果环境温度低时溶液可能析出沉淀, 可在 37°C 水浴加热几分钟, 即可恢复澄清。轻柔颠倒混匀, 避免出大量气泡。
2. 避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、pH 值变化, 各溶液使用后应及时盖紧盖子。

❖ 产品介绍:

FastBeat 增强型土壤 DNA 提取试剂盒是 DN45 FastBeat 土壤 DNA 提取试剂盒的升级版。可在 40 分钟以内, 从土壤样本中快速、高效提取出可直接用于 PCR 实验的基因组 DNA。本试剂盒配套珠磨破碎设备使用 (例如 MP Biomedicals 公司的 FastPrep® 系列仪器), 仅需 40 秒即可完成土壤中各类微生物的裂解。实验时将样本加入预装三种研磨珠的 2 ml 离心管中; 该研磨珠由陶瓷颗粒与二氧化硅颗粒复配而成, 能够高效裂解各类土壤微生物, 包含以往较难裂解的靶标: 真细菌孢子、内生孢子、革兰氏阳性菌、酵母菌、藻类、线虫以及真菌。

试剂盒采用独家创新工艺去除样本中高浓度腐殖酸, 可适配堆肥、底泥、粪肥等难处理土壤基质。最终提取的 DNA 纯度优异, 大幅提升土壤微生物的 PCR 扩增成功率。该试剂盒可检出多种微生物: 细菌 (枯草芽孢杆菌、炭疽杆菌等)、真菌 (酵母菌、霉菌等)、藻类以及放线菌 (链霉菌等)。使用本试剂盒回收的 DNA 杂质抑制少, 完整性好, 可直接用于 PCR、酶切、高通量测序、宏基因组微生物多样性分析等下游实验。

❖ 产品特点:

1. 综合了 MP 公司和 Qiagen 凯杰同款产品的优点研制而成。最大限度的提高了产量, 纯度, 和下游实验包括 PCR 扩增、高通量测序的成功率。
2. 真正有大量高通量测序公司大规模使用案例和经验、有大量替换进口同类产品的真实案例的成熟成品。

❖ 注意事项:

自备研磨仪 (或者涡旋振荡仪代替)、乙醇、异丙醇等。

向装有样本的研磨管中加入裂解液 SPB 与缓冲液 MT 后, 管内液面上方必须预留足量空气间隙, 保障 FastPrep® 仪器破碎均质的效率。MP Biomedicals 推荐样本初始投入量为 500 mg, 同时管内空余容积需维持在 250~500 μ l; 研磨管装填过量会造成样本损耗, 甚至引发离心管破损。研磨管管盖需拧紧密封, 但不可用力过紧, 防止样本渗漏。若单支离心管无法容纳全部样本量, 需均分样本、分多管处理。本试剂盒已在 FastPrep® 仪器中完成严苛验证: 仪器转速设置为 6.0, 单次运行 40 s, 即可裂解绝大多数土壤样本。若经实验验证部分样本需要延长破碎时长, 多次使用 FastPrep® 均质处理的间隔阶段, 需将研磨管置于冰上静置至少 2 min, 避免样本与离心管因持续高速摩擦过热损坏。

若使用其他品牌珠磨式组织研磨仪，请参照对应设备厂商的说明书设置适配参数，保证提取效果。没有研磨仪的用户可以用涡旋振荡 10 min 来代替。

❖ 操作步骤

⇒ 第一次使用前，按照缓冲液 GH 瓶子标签指示加入**异丙醇**和漂洗液 WB 瓶子标签指示加入无水乙醇，充分混匀，在标签上打钩标记已经加入了乙醇或者异丙醇。

1. 向研磨管中加入最多不超过 500 mg 土壤样本。.
2. 向土壤样本中加入 980 μ l 缓冲液 SPB、 120 μ l 缓冲液 MT。
▲ 用前检查缓冲液 MT。如果天气冷导致缓冲液 MT 出现沉淀，可以 60°C 加热重新溶解，轻柔颠倒混匀后使用。
3. 使用 FastPrep 样品制备仪，6.0 m/s，研磨 40 sec，或涡旋震荡 10 min。
▲ 以上研磨条件适合于大多数样本，但个别样本需要的研磨速度和时间需要尝试后再确定。如果没有 FastPrep 仪器，可使用涡旋震荡仪（推荐搭配相应适配器），以最大速度涡旋 10 min 来裂解样本。
4. 13, 000 rpm 离心 5-10 min 沉淀杂质。
5. 小心地将上清液（约 800 μ l）转移至新的 2 ml 离心管（自备）。加入 300 μ l 缓冲液 SR，涡旋 10 sec 充分混匀，13, 000 rpm 离心 1 min。转移上清液到 2 ml 离心管（注意不要吸到底部可能的沉淀）。
6. **柱平衡**：向吸附柱 AC 中加入 100 μ l 平衡液，13, 000 rpm 离心 1 min，弃滤液，备用。
▲ 平衡液可以增强硅胶膜的吸附核酸能力，请使用当天处理的吸附柱。
7. 加入等体积的缓冲液 GH 到上清液中，涡旋震荡或者吹打混匀。
▲ 使用前确保缓冲液 GH 瓶子中已经加入了指定量**异丙醇**。
▲ 确保缓冲液 GH 直接加入上清液并立刻混匀。
8. 将上一步混合物 720 μ l（包括可能的沉淀）加入一个吸附柱 AC 中，（吸附柱放入收集管中），13, 000 rpm 离心 30 sec，倒掉收集管中的废液。将离心柱放回收集管，重复直到所有的混合物都加完。
▲ 大约需要重复 3 次才能将所有的混合物都上到离心柱上。

9. 加入 600 μ l Buffer WB(请先检查是否已加入无水乙醇!), 13, 000 rpm 离心 30 sec, 弃掉废液。再加入 600 μ l Buffer WB 重复漂洗一遍。
10. 将吸附柱 AC 放回空收集管中, 13, 000 rpm 离心空甩 2 min, 尽量除去漂洗液, 以免漂洗液中残留乙醇抑制下游反应。
11. 取出吸附柱 AC, 放入一个干净的 1.5 ml 离心管中, 在吸附膜的中间部位加 50–80 μ l Elution Buffer (洗脱缓冲液事先在 80–90°C 水浴中预热效果更好), 室温放置 3–5 min, 13, 000 rpm 离心 1 min。
 - ▲ 洗脱体积越大, 洗脱效率越高, 如需要 DNA 浓度较高, 可以适当减少洗脱体积, 但是最小体积不应少于 30 μ l, 体积过小降低洗脱效率, 减少 DNA 产量。
 - ▲ 将得到的洗脱液重新加入离心吸附柱中, 室温放置 2 min, 13, 000 rpm 离心 1 min。重复洗脱一次可以提高浓度约 10-15%。
12. 洗脱下来的 DNA 可以立刻使用, 或者可以放置在–20°C 保存。