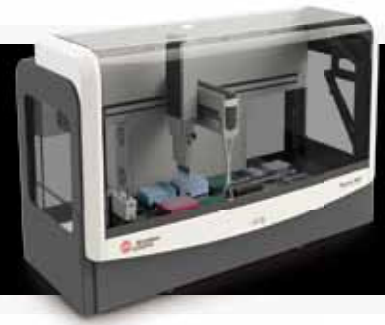


Biomek 4000

土壤微生物核酸自动提取方法



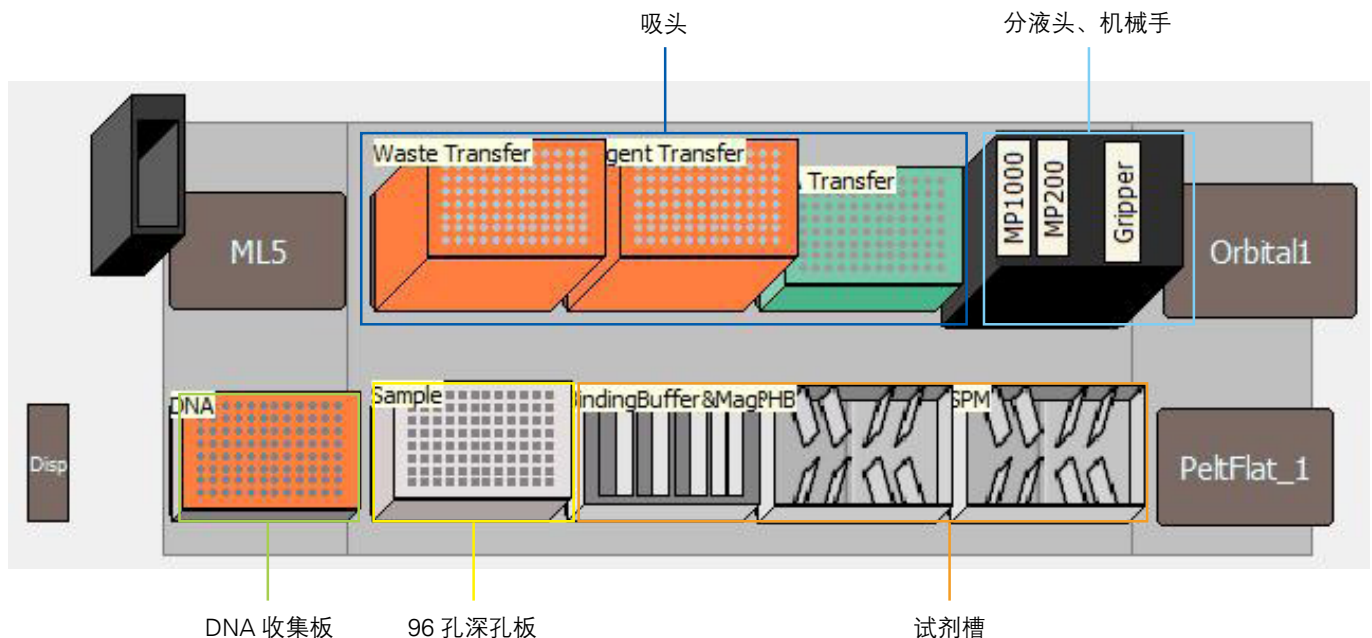
Biomek 4000 土壤微生物核酸自动提取方法

本方法专门针对需要从土壤环境中提取微生物核酸的实验而设计。以 Biomek 4000 型标准核酸提取自动化工作站为平台，作为开放平台，可搭配市面上各品牌的磁珠法土壤微生物核酸提取试剂盒进行自动化核酸提取工作，通常可在两小时内完成 96 份土壤样本的 DNA 提取，所提取出的 DNA 可直接用于下游检测分析实验，例如 PCR、QPCR、SNP 分析等等。

Biomek 4000 型标准核酸提取自动化工作站具有 12 个标准工作板位，3 个扩展工具板位和一个独立的吸头丢弃收集板位，涵盖 1ul—1000ul 的移液量程，具备机械手、96 孔磁力架、高速自锁扣振荡模块和可独立调节的 Peltier 温度控制模块，具备安全废液槽（可将实验过程中产生的废液收集引流至工作平台下方的大体积生物安全桶中，从而避免废液对实验区域造成污染）。整台 Biomek 4000 型标准核酸提取自动化工作站可直接放入双人尺寸的标准通风橱 / 超净台 / 生物安全柜中工作。

Biomek 4000 操作流程

- 1、土壤样本前处理及裂解工作按试剂盒说明书的要求手动操作完成。
- 2、台面准备：按照台面布局提示放置好运行所需吸头、板和试剂。
- 3、取 400ul 的裂解后样本，手动转移到 96 孔深孔板当中 [6]，之后放置于 Biomek 4000 台面上。
- 4、打开核酸提取程序，运行。
- 5、程序运行完毕（约 2 小时），从 Biomek 4000 台面取走核酸收集板，进行下游实验。



Discovery
in motion.

 **BECKMAN
COULTER**

Life Sciences

Biomek 4000 核酸提取程序，可在每次运行前输入本次实验的样本数，之后运行即可。单次程序最大样本处理数为 96 份，运行时间约 2 小时。

实验结果

该方法统一使用上样体积 400ul，最终洗脱体积 120ul，电泳检测加样体积 2ul，1Kb DNA Marker 来对核酸提取效果进行检测，样品来源为自然环境下原土壤样本。程序测试过程中所用吸头为 Beckman 原厂无滤芯普通吸头。核酸提取结束后，使用分光光度仪（纯度检测）、琼脂糖凝胶电泳（DNA 完整性及总量）及常规 PCR 扩增（结果验证）三种方法对实验结果进行检验。

部分实验结果数据如下所示：

纯度及 DNA 完整性检测（OD 值、电泳）

NO.	浓度 (ng/μl)	OD 260/280
1	27.1	1.88
2	27.9	1.90
3	29.2	1.85
4	31.6	1.91
5	29.7	1.89
6	42.3	1.90
7	41.6	1.87
8	40.1	1.86
9	27.0	1.86
10	26.5	1.86
11	31.7	1.90
12	27.8	1.89
13	34.2	1.90
14	21.3	2.25
15	38.1	1.91
16	26.7	1.92
17	29.6	1.88
18	29.2	1.88
19	29.9	1.87
20	14.3	2.57
21	19.4	2.25
22	34.7	1.86
23	39.9	1.88
24	32.3	1.87
25	30.6	1.89
26	32.6	1.89
27	33.3	1.86
28	19.7	2.12
29	35.8	1.85
30	37.8	1.88
31	41.5	1.89
32	27.1	1.88

* 上述数据采用 OMEGA 公司的 Mag-Bind® Soil DNA Kit 提取获得

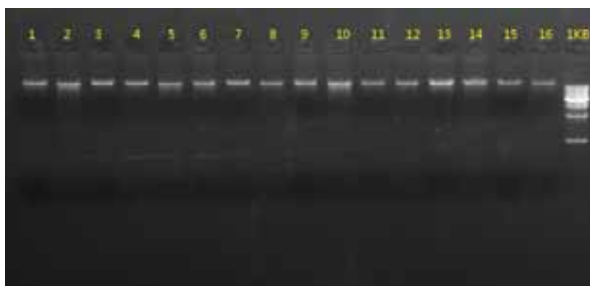
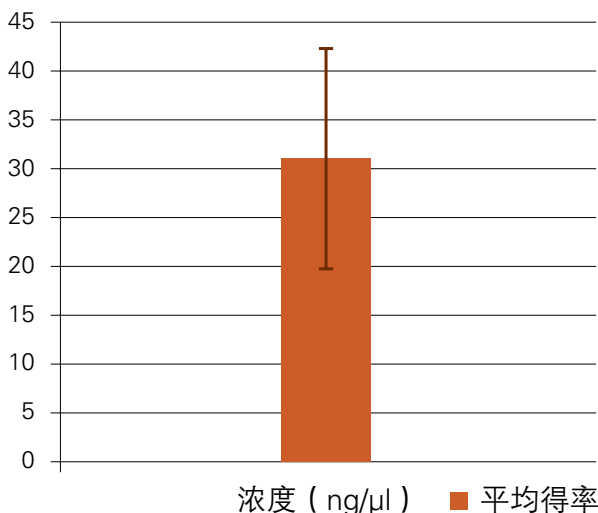
PCR 验证试验

（20μl 反应体系，2% 琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物，3μl 上样检测电泳图）：

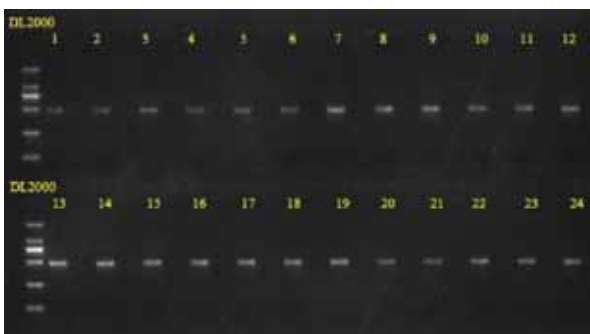
5 × FastPfu Buffer 4μl
 2.5 mM dNTPs..... 2μl
 Forward Primer(5μM)..... 0.4μl
 Reverse Primer(5μM) 0.4μl
 FastPfu Polymerase..... 0.4μl
 Template DNA 10ng
 补 ddH₂O 至 20μl
 PCR 仪：ABI GeneAmp® 9700 型

PCR 反应参数：

- 1 × (3 minutes at 95°C)
- 25 × (30 seconds at 95°C; 30 seconds at 55 °C; 45 seconds at 72°C)
- 10 minutes at 72°C, 10°C until halted by user



电泳结果：



贝克曼库尔特商贸(中国)有限公司

上海市浦东新区福山路500号城建国际中心12层 邮编：200122 电话：021-38651000 网址：www.beckmancoulter.com.cn

广州 020-8518 7188	福州 0591-8850 5800	成都 028-8621 0135	武汉 027-8823 2300	南京 025-6667 6033	杭州 0571-8767 8208	北京 010-6521 3000
西安 029-8833 7440	哈尔滨 0451-5555 0637	郑州 0371-5563 7430	济南 0531-8096 5011	沈阳 024-3195 8690	昆明 0871-6361 7528	乌鲁木齐 0991-2952 790