

MagPure Soil DNA Kit

磁珠法土壤 DNA 提取试剂盒

本产品是专门为土壤 DNA 提取而设计的。试剂盒采用磁珠法纯化技术，并结合独创的腐殖酸吸附剂技术，适合于从各种土壤，如森林土壤，草地土壤，矿区土壤，底泥等样品中提取高产量高纯度的总 DNA。腐殖酸吸附剂可高效地吸附土壤样品中的腐殖酸和其它抑制因子，纯化的 DNA 可直接用于 PCR、Southern 杂交、酶切等实验。样品在裂解液和蛋白酶的作用下裂解消化，DNA 释放到裂解液中。加入结合液和磁性粒子吸附 DNA，而蛋白质则不被吸附而去除。吸附了 DNA 的粒子经洗涤液洗涤去除蛋白质和其它杂质，再经含乙醇洗涤去除盐分，最后 DNA 被低盐缓冲液(Buffer TE)洗脱。

产 品 组 份：瓶装试剂 (Elution Buffer: 10mM Tris,pH8.5)

产品编号	D6356-01	D6356-02	D6356-03
纯化次数	48 次	96 次	480 次
2ml Beads Tubes	48 管	96 管	5x96 管
MagPure Particles N	2.5 ml	5 ml	22 ml
Absorber Solution	10 ml	20 ml	100 ml
Reagent DX	1.5 ml	1.5 ml	5 ml
Buffer SOL	60 ml	100 ml	550 ml
Buffer SDS	5 ml	10 ml	30 ml
Buffer PSS	10 ml	20 ml	100 ml
Buffer GDP	60 ml	120 ml	550 ml
Buffer BW1 *	13 ml	26 ml	176 ml
Elution Buffer	40 ml	80 ml	400 ml

保 存 条 件

本产品室温运输和保存时，把 Absorber Solution 和 MagPure Particles N 保存于 -2-8℃，其余产品保存于室温，有效期 18 个月。

产品组份

- 预分装试剂，版本，尖底板

货号	预分装试剂和装量	D6356-TL-06 96 人份	D6356-S-48 48 人份
2ml Bead Tubes		96 管	48 管
Reagent DX		1.5 ml	1.5 ml
Buffer SOL		100 ml	50 ml
Buffer SDS		10 ml	5 ml
Absorber Solution		20 ml	10 ml
Buffer PSS		20 ml	10 ml
8联磁力外套		12 个	24 个
预装试剂板	第 1/7 排孔：500µl Buffer GDP	6 块	48 条
	第 2/8 排孔：500µl Buffer GDP		
	第 3/9 排孔：500µl Buffer BW1		
	第 4/10 排孔：500µl Buffer GW2 30µl MagPure Particles N		
	第 5/11 排孔：500µl Buffer GW2		
	第 6/12 排孔：100µl Elution Buffer		

保存条件

本产品室温运输和保存时，把 Absorber Solution 保存于 2-8℃，其余产品保存于室温，有效期 18 个月。

需要准备材料

- 75%乙醇
- 用无水乙醇稀释 Buffer BW1，并于室温保存。

第一部分: 样品的裂解和消化

- 配制 Buffer SOL Plus: 按 1ml Buffer SOL 加入 50 μ l Buffer SDS 和 5 μ l Reagent DX, 混匀。
1. 在 2ml Bead Tubes 中, 加入~0.5g 土壤、0.1g 粪便、~0.5g 环境类样品、0.3ml 发酵液、0.3ml 培养液等样品, 加入 0.8ml Buffer SOL Plus, 盖紧盖子。
 2. 根据实验室条件, 选择珠磨进行裂解。
 - 涡旋仪: 推荐使用美基涡旋仪 MagMix A, 这台涡旋仪带 2ml 离心管的夹具, 可一次高效处理 10~20 个样品。根据样品的不同, 使用涡旋仪时, 珠磨裂解时间增加到 15~30 min 可能是有利的, 可以根据目标菌群特性和下游应用来调整。
 - Powerlyzer 珠磨仪: 建议 2000rpm 珠磨 30 秒, 暂停 30 秒, 再 2000rpm 珠磨 30 秒。
 - FastPrep24 珠磨仪: 建议 5m/s, 珠磨 30 秒, 暂停 30 秒, 再 5m/s 珠磨 30 秒。
 - Tissue Lysis II 珠磨仪: 建议 25Hz 珠磨 5 分钟, 重新调整位置后再 25Hz 珠磨 5 分钟。
 3. 65°C 水浴 10 分钟。
 4. 13,000 $\times$ g 离心 5 分钟, 转移 500 μ l 上清液至 1.5ml 离心管中。
 5. 加入 150 μ l Buffer PSS, 涡旋混匀 5 秒。加入 150 μ l Absorber Solution, 涡旋混匀 5 秒, 冰上放置 10 分钟。
 6. 13,000 $\times$ g 离心 5 分钟, 按第二部分进行上机操作。

第二部分: 单管操作

1. 在 1.5ml 离心管中, 加入 40 μ l MagPure Particles N 和 600 μ l Buffer GDP。
2. 转移 500 μ l 上清液 (第 6 步) 至含有 GDP 和磁珠的离心管中, 颠倒混匀 10-15 次, 室温放置 5 分钟, 其间涡旋混匀几次。转移至磁力架上吸附 3 分钟, 倒弃或吸弃溶液。
3. 加入 500 μ l Buffer GDP, 涡旋 10 秒。转移至磁力架上吸附 2 分钟, 倒弃或吸弃溶液。
4. 加入 500 μ l Buffer BW1, 涡旋 10 秒。转移至磁力架上吸附 1 分钟, 倒弃或吸弃溶液。
5. 加入 500 μ l 75%乙醇, 涡旋 10 秒。转移至磁力架上吸附 1 分钟, 倒弃或吸弃溶液。
6. 加入 500 μ l 75%乙醇, 涡旋 10 秒。转移至磁力架上吸附 1 分钟, 倒弃或吸弃溶液。
7. 短暂离心收集管壁上液滴, 转移至磁力架上, 吸尽残液。空气干燥 10 分钟。
8. 加入 100 μ l Elution Buffer, 涡旋打散磁珠。55°C 振荡温育 10 分钟。若无振荡温育, 其间

涡旋混匀 2~3 次加速 DNA 的溶解。

9. 转移至磁力架上吸附 5 分钟，把 DNA 转移至新的离心管中。

第三部分：32/48 通道核酸提取仪操作

- 1. 瓶装试剂：按预分装试剂表格所示，按各种试剂分装至 96 孔板的对应孔中。
预分装试剂：颠倒 96 孔板让磁珠充分悬浮，正放 1 分钟后，去除封口袋和封口膜。
- 2. 在第 1/7 排孔中，加入 500μl 上清液（第一部分第 6 步）。
- 3. 把磁力外套插到仪器中，把 96 孔板放到仪器中(A1 孔按左内角放置)。
- 4. 编写程序，并启动对应程序。约 30 分钟，提取结束。取出 96 孔板和磁力外套。
- 5. 把 DNA 转移至 1.5ml 离心管中，把产物保存于-20~8℃。

MagMix 16/32/48 核酸提取仪参数

序号	步骤名称	孔位	容积	混合时间		等待		磁吸时间			吸磁	加热	
				时间	速度	时间	位置	升降	液面	底部		板位	温度
1	吸磁	4	400	30s	8	0	0	90s	0	0	自动	/	/
2	结合	1	800	240s	8	0	0	90s	50	50	自动	/	/
3	清洗1	2	400	60s	8	0	0	90s	50	50	自动	/	/
4	清洗2	3	400	60s	8	0	0	90s	0	0	自动	/	/
5	清洗3	4	400	60s	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
6	清洗4	5	400	60s	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
7	干燥	5	0	0	0	5min/晾干		0	0	0	自动	/	/
8	洗脱	6	100	400s	9	0	0	60s	0	0	自动	6	55
9	弃磁1	5	500	30s	9	1min/晾干		0	0	0	自动	/	/
10	洗脱	6	100	60s	9	0	0	60s	0	50	自动	/	/
11	弃磁2	5	500	30s	9	0	0	0	0	0	自动	/	/