

MagPure Stool DNA Kit

磁珠粪便 DNA 提取试剂盒

本产品是为粪便样品的 DNA 提取而设计,适合于从小于 200mg 粪便样品中提取高纯度的 DNA。样品经裂解液裂解进行珠磨裂解后,得到上清液,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残留的蛋白质和其它杂质,再经高浓度的乙醇液洗涤去除盐分,最后 DNA 被低盐缓冲液(10Mm Tris, pH8.5)洗脱。洗脱的 DNA 可直接用于 PCR、病毒检测等实验。

产 品 组 份

瓶装试剂

产品编号	D6358-00	D6358-01	D6358-02	D6358-03
2ml Bead Tubes	24 次	48 次	96 次	480 次
Proteinase K Solution	0.6 ml	1.2 ml	2.5 ml	11 ml
MagPure Particles	1.1 ml	1.6 ml	3.5 ml	17 ml
Buffer ATL	30 ml	70 ml	150 ml	550 ml
Buffer PS	10 ml	15 ml	30 ml	180 ml
Buffer GDP	30 ml	60 ml	120 ml	550 ml
Buffer BW1 *	13 ml	22 ml	44 ml	220 ml
Elution Buffer	10 ml	20 ml	60 ml	60 ml

保 存 条 件

本产品室温运输,收到产品把 MagPureParticles 和 ProteinaseKSolution 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

货号	预分装试剂和装量	D6358-TL-06 96 人份	D6358-S-48 48 人份
2ml Bead Tubes		96 个	48 个
Proteinase K Solution		2.5 ml	1.2 ml
Buffer ATL		150 ml	70 ml
Buffer PS		30 ml	20 ml
8联磁力外套		12个	24个
预装试剂板	1/7排孔：500µl Buffer GDP	6 块	48 条
	2/8排孔：500µl Buffer GDP		
	3/9排孔：500µl Buffer BW1		
	4/10排孔：500µl Buffer GW2/30µl MagPure Particles		
	5/11排孔：500µl Buffer GW2		
	6/12排孔：90µl Elution Buffer		

保存条件

本产品室温运输，收到产品把 ProteinaseKSolution 保存于 2-8℃，其余保存室温，有效期 18 个月。

需要准备材料和工具

- 75%乙醇
- Buffer BW1 使用前，须按瓶子标签所示，加入无水乙醇进行稀释。
- MagPure Particles 初次使用时，必须剧烈摇晃 1-2 分钟让磁珠充分分散。

第一部分：样品的裂解和消化

1. 根据样品类型，按以下方案进行样品的匀浆与裂解。
 - **粪便样品：** 在 2ml Bead Tubes 中，加入 50~75mg 动物粪便、100~200mg 人体粪便、0.15~0.2ml 粪便悬液，然后加入 1.0ml Buffer ATL 和 20µl Proteinase K，盖紧盖子。
若只需提取人源 DNA 时，可以适量提高样品量，并缩短珠磨时间减少微生物 DNA 的释放。

- **粪便保存管(裂解型):** 在 2ml Bead Tubes 中, 转移 0.5ml 粪便保存液 (含粪便固体物), 然后加入 0.5ml Buffer ATL 和 20 μ l Proteinase K, 盖紧盖子。
 - **分泌液、组织匀浆液、发酵液等液体样品:** 在 2ml Bead Tubes 中, 加入 0.6ml 分泌液、组织匀浆液、等液体样品, 然后加入 0.5ml Buffer ATL 和 20 μ l Proteinase K, 盖紧盖子。
2. **根据实验室条件进行裂解。**
 - 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 20 分钟, 期间颠倒混匀数次。 $\geq 14,000 \times g$ 离心 5 分钟。
 4. 转移 600 μ l 上清液至新的离心管中, 加入 200 μ l Buffer PS, 涡旋混匀 10 秒。冰上放置 10 分钟。
 5. $\geq 14,000 \times g$ 离心 5 分钟得上清液备用。

第二部分: 单管操作

1. 转移 500 μ l 上清液至 2.0ml 离心管中, 加入 30 μ l MagPure Particles 和 600 μ l Buffer GDP 至上清液中, 颠倒混匀 10-15 次, 室温放置 10 分钟。其间涡旋混匀几次。转移至磁力架上吸附 1 分钟, 倒弃或吸弃溶液。
2. 加入 500 μ l Buffer GDP, 涡旋 10 秒。转移至磁力架上吸附 1 分钟, 倒弃或吸弃溶液。
3. 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。
4. 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。
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. 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。
7. 加入 100 μ l Elution Buffer, 涡旋打散磁珠。55°C 振荡温育 10 分钟。若无振荡温匀, 其间涡旋混匀 2~3 次加速 DNA 的溶解。
8. 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 400~450µl 上清液（第一部分的第 5 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。
5. 取出 96 孔板和磁力外套。
6. 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	60s	0	0	自动	/	/
2	结合	1	900	300s	8	0	0	90s	30	30	自动	/	/
3	清洗1	2	500	90s	8	0	0	90s	50	50	自动	/	/
4	清洗2	3	500	90s	8	0	0	90s	0	0	自动	/	/
5	清洗3	4	500	60s	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
6	清洗4	5	500	60s	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
7	干燥	5	0	0	0	7min/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	20s	9	1min/晾干		0	0	0	自动	/	/
10	洗脱	6	100	60s	9	0	0	90s	0	50	自动	/	/
11	弃磁2	5	500	30s	9	0	0	0	0	0	自动	/	/