

## MagPure Soil DNA Kit B

### 磁珠土壤 DNA 提取试剂盒 B

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

产品编号	D6356-01B	D6356-02B	D6356-03B
纯化次数	48 次	96 次	480 次
匀浆管 C	48 个	96 个	5 x 96 个
MagPure Particles	2.5 ml	5 ml	22 ml
Buffer SOL	60 ml	120 ml	550 ml
Buffer PS	10 ml	20 ml	100 ml
Absorber Solution	10 ml	20 ml	100 ml
Buffer GDP	60 ml	120 ml	550 ml
Buffer BW1 *	22 ml	44 ml	220 ml
Elution Buffer	20 ml	30 ml	120 ml

### 保存条件

本产品室温运输和保存时，把 Absorber Solution 和 MagPure Particles 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	D6356B-TL-06 96 人份	D6356B-S-48 48 人份
匀浆管 C		96 个	48 个
Buffer SOL		100 ml	60 ml
Buffer PS		20 ml	10 ml
Absorber Solution		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		
	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

### 1. 根据样品类型进行样品前处理

- **固体样品 (土壤类):** 在匀浆管 C 中, 加入 0.25-0.5g 土壤, 加入 0.9ml Buffer SOL。
- **固体样品 (粪便类):** 在匀浆管 C 中, 加入 50~100mg 粪便, 加入 0.9ml Buffer SOL。
- **粪便悬液:** 在匀浆管 C, 加入 500µl 粪便悬液, 加入 0.6ml Buffer SOL。
- **固体样品 (食物、发酵固体、其它环境类样品):** 在匀浆管 C, 加入 0.2g 食物、发酵物残渣或环境类样品, 加入 0.9ml Buffer SOL。

- **液体样品:** 在 2m 匀浆管 C, 加入 0.6ml 唾液、血浆、血清、全血、浸泡液、匀浆液、重悬液、痰液液化液、微生物重悬液等样品, 加入 500 $\mu$ l Buffer SOL。
2. **根据实验室条件, 选择珠磨进行裂解。**
    - **涡旋仪:** 把准备好的样品转移至涡旋仪(如 MagMix A), 最高速度涡旋混匀 10 分钟。
    - **珠磨仪:** 把准备好的样品转移至珠磨仪进行珠磨。举例: 用 FastPrep-24<sup>®</sup> (MP)时, 推荐速度为 6.0, 时间为 60 秒, 珠磨 2 次。
  3. 65 $^{\circ}$ C 水浴 20 分钟。
  4. 13,000  $\times$  g 离心 3 分钟。转移 500 $\mu$ l 上清液至 1.5ml 离心管中。
  5. **加入 150 $\mu$ l Buffer PS 涡旋混匀 15 秒; 加入 150 $\mu$ l Absorber Solution 至上清液中, 涡旋混匀 15 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。

## 方案 1. 单管操作

1. 在 1.5ml 离心管中, 加入 40 $\mu$ l MagPure Particles 和 600 $\mu$ l Buffer GDP。
2. 转移 500~600 $\mu$ 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 2 分钟, 倒弃或吸弃溶液。
3. **加入 500 $\mu$ 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。
4. **加入 750 $\mu$ 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 750 $\mu$ 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 750 $\mu$ 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 $\mu$ l Elution Buffer, 涡旋打散磁珠。**55 $^{\circ}$ 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。
9. 转移至磁力架上吸附 5 分钟, 把 DNA 转移至新的离心管中。

## 方案 2: 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 500 $\mu$ l 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。
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	800	300s	8	0	0	90s	10	10	自动	/	/
3	清洗1	2	400	90s	8	0	0	90s	10	10	自动	/	/
4	清洗2	3	400	60s	8	0	0	60s	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	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	30s	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	/	/