

MagPure Stool/Soil DNA KF Kit

简介

MagPure Stool/Soil DNA KF Kit 采用预装试剂，是专门为 96 通道全自动核酸提取仪设计的产品，适合于从 0.25-0.5g 土壤或者小于 200mg 粪便样品中提取 DNA。试剂盒基于超顺磁性的磁性粒子纯化技术，可最大程度减少交叉污染的风险，提高检测的灵敏度和准确度。仪器运行时间只需 40 分钟。得到的 DNA 可直接用于定量 PCR 等实验。

组成

产品编号	D6356-F96-SH
纯化次数	96 次
Glass Beads Mix	60g
Buffer SOL	100 ml
Buffer SDS	10 ml
Buffer PS	20 ml
Elution Buffer	1.8 ml
板位1(DW Plate)&96-Tip	1
板位2(DW Plate)	1
板位3(DW Plate)	1
板位4(DW Plate)	1
板位5(DW Plate)	1
板位8 (KF Plate)	1

预装板如下

板名称	预装试剂	使用前加入
板位1: /	放入Tip	
板位2: 500ul GDP	500ul Buffer GDP	450ul上清液
板位3: 500ul GDP	500ul Buffer GDP	
板位4:700ul GW2+40ulMPN	700ul Buffer GW2 40ul MagPure Particles N	
板位5: 700ul GW2	700ul Buffer GW2	
板位 8:90ul Elution Buffer	90ul Elution Buffer	

保存条件

MagPure Stool/Soil DNA KF Kit 室温下运输，收到产品在室温下保存，有效期为 12 个月。

提取流程

1. 根据样品类型进行样品前处理

● 土壤或其它环境类样品匀浆裂解(0.25-0.5g)

手工涡旋: 在 2ml 离心管中，加入~500mg 的玻璃珠，加入 0.25-0.5g 土壤样品和 0.6~0.8ml Buffer SOL。在涡旋仪上最高速度涡旋 5-10 分钟；再加入 60ul Buffer SDS 至样品中，涡旋混匀 30 秒。按第 2 步进行操作。

珠磨仪: 在 2ml 离心管中，加入~500mg 的玻璃珠，加入 0.25-0.5g 土壤样品和 0.6~0.8ml Buffer SOL 和 30ul Buffer SDS，在珠磨仪上进行匀浆。不同的珠磨仪因功率不一样，应根据仪器进行调整。举例：采用 FastPrep-24® (MP) 时，推荐速度为 6.0，时间为 40 秒。按第 2 步进行操作。

推荐用珠磨仪如 FastPrep-24® 来匀浆土壤样品，珠磨仪能量高，短时间匀浆就能达到效果可减少 DNA 断裂。用涡旋仪涡旋匀浆土壤时，因效率低，时间长，对 DNA 完整性和产量方面都会有影响。若样品中含水量很多，可先离心去除水分后再进行操作。

● 粪便的匀浆裂解(0.1~0.2g)

手工涡旋: 在 2ml 离心管中，加入~500mg 玻璃珠，转移加入 100~200mg 粪便样品至装有玻璃珠的离心管中。若样品为液体，吸取 0.15~0.2ml 样品。吸取时，把枪头的头部剪去以方便转移。加入 1.0 ml Buffer SOL 和 60ul Buffer SDS 至样品中，在涡旋仪高速涡旋 10 分钟或转移至珠磨仪高速研磨样品。按第 2 步进行操作。

珠磨仪: 在 2ml 离心管中，加入~500mg 的玻璃珠，加入 0.1~0.2g 粪便样品和 0.6ml Buffer SOL 和 30ul Buffer SDS，在珠磨仪上进行匀浆。不同的珠磨仪因功率不一样，应根据仪器进行调整。举例：采用 FastPrep-24® (MP) 时，推荐速度为 6.0，时间为 40 秒。按第 2 步进行操作。

● 粪便保存管(裂解型)

在 2ml 离心管中，加入~500mg 玻璃珠，转移 1~1.5ml 粪便保存液（含粪便固体物），用手工涡旋或珠磨仪进行充分匀浆。按第 2 步进行操作。

● 微生物发酵液

离心收集微生物，吸弃培养液。(沉淀量不能超过 0.5ml)，加入 ~500mg 玻璃珠，以及 0.6ml Buffer SOL 和 60 μ l Buffer SDS，用手工涡旋或珠磨仪进行充分匀浆。按第 2 步进行操作。

2. [可选]进一步裂解细菌：

- 对多数微生物：70°C 水浴 10 分钟。
- 对极难破裂的细菌：90°C 水浴 10 分钟。

部分细菌或真菌带有很厚的细胞壁，如葡萄球菌属等，这些微生物极难裂解，90°C 水浴 10 分钟可提高其裂解效果，但 90°C 处理会引起 DNA 的片断化。推荐先采用 65°C 水浴来提取 DNA，再根据结果调整水浴温度和珠磨时间。处理某些样品时(如富含有机质的底泥)，65°C 加热也可能引起 DNA 的片段化，此时可省略这一步。DNA 的片段化不会影响常规的 PCR 运用。

3. 13,000 x g 离心 3 分钟。
4. 转移 500 μ l 上清液至 1.5ml 离心管中。
5. 加入 150 μ l Buffer PS 至上清液中。涡旋混匀 10 秒。
6. 冰上放置 10 分钟，期间颠倒混匀 2 次。
7. 13,000 x g 离心 5 分钟，转移 450 μ l 上清液，按第二部分进行上机操作。

第二部分：

● 上机纯化操作(单板操作)

1. 把预装试剂的板平放于桌面，并轻轻拍打几下让孔壁上的液滴滴回孔中，小心去除封口膜。
2. 取出板位 2，加入 450 μ l 上清液。
3. 把 96 孔磁力套反复向外扭几次使之更为平整，然后放到板位 3 板中。
4. 打开机器，启动对应程序 D6356，按提示把 96 孔板放到仪器中。
5. 约 30 分钟后，结束。
6. 取出 96 孔板，把产物保存于-20~8°C。

96 通道仪器的程序设计：

- Pick Up: From 板位 1。
- 板位 4: 中速混匀 30 秒，吸磁 1 次 1 秒。
- 板位 2: 中速混匀 8 分钟。吸磁 3 次 1 秒。
- 板位 3: 中速混匀 120 秒。吸磁 2 次 1 秒。
- 板位 4: 中速混匀 60 秒。吸磁 1 次 1 秒。
- 板位 5: 中速混匀 60 秒。吸磁 1 次 1 秒。

- 板位 8: 干燥 8 分钟。
- 板位 8: 中速混匀 8 分钟，吸磁 2 次 30 秒。
- 板位 5: 中速混匀 15 秒。
- 板位 8: 干燥 1 分钟。
- 板位 8: 中速混匀 1 分钟，吸磁 2 次 30 秒。
- 板位 5: 中速混匀 10 秒。

● 上机纯化操作(双板操作，高产量)

该操作建议把第一部分的第 4 步上清液(~0.6ml)全部收集，按比例加入 Buffer PS，在第 7 步得到约为 0.75ml 的上清液。采用该方案时，需要另外订购多一块板位 1:500 μ l GDP。

1. 把预装试剂的板平放于桌面，并轻轻拍打几下让孔壁上的液滴滴回孔中，小心去除封口膜。
2. 取出板位 1 跟板位 2，把样品分成两份，每个对应的位置加入 375 μ l 上清液。
3. 把 96 孔磁力套反复向外扭几次使之更为平整，然后放到板位 3 板中。
4. 打开机器，启动对应程序 D6356B，按提示把 96 孔板放到仪器中。
5. 约 35 分钟后，结束。
6. 取出 96 孔板，把产物保存于-20~8°C。

96 通道仪器的程序设计：

- Pick Up: From 板位 1。
- 板位 4: 中速混匀 30 秒，吸磁 1 次 1 秒。
- 板位 2: 中速混匀 8 分钟。吸磁 3 次 1 秒。
- 板位 3: 中速混匀 8 分钟。吸磁 3 次 1 秒。
- 板位 3: 中速混匀 120 秒。吸磁 2 次 1 秒。
- 板位 4: 中速混匀 60 秒。吸磁 1 次 1 秒。
- 板位 5: 中速混匀 60 秒。吸磁 1 次 1 秒。
- 板位 8: 干燥 8 分钟。
- 板位 8: 中速混匀 8 分钟，吸磁 2 次 30 秒。
- 板位 5: 中速混匀 15 秒。
- 板位 8: 干燥 1 分钟。
- 板位 8: 中速混匀 1 分钟，吸磁 2 次 30 秒。
- 板位 5: 中速混匀 10 秒。