

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。样品经裂解液裂解和 Buffer PCI 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	D6364-00	D6364-01	D6364-02	D6364-03
纯化次数	24 次	48 次	96 次	480 次
2ml Beads Tubes	24 管	48 管	96 管	5×96 管
MagPure Particles	0.6 ml	1.1 ml	2.5 ml	11 ml
Proteinase K	12 mg	24 mg	50 mg	220 mg
RNase A	5 mg	10 mg	20 mg	45 mg
Protease Dissolve Buffer	1.8 ml	5 ml	15 ml	20 ml
Buffer SPL	15 ml	40 ml	80 ml	350 ml
Buffer PCI	15 ml	40 ml	80 ml	350 ml
Buffer MLBN	15 ml	40 ml	80 ml	350 ml
Buffer GXP	15 ml	40 ml	80 ml	350 ml
Buffer BW1 *	13 ml	26 ml	66 ml	220 ml
Buffer AE	10 ml	20 ml	60 ml	60 ml

保存条件

本产品室温运输和保存,收到产品把 Buffer PCI、Proteinase K、RNase A 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	D6364-TL-06 96 人份	D6364-S-48 48 人份
2ml Bead Tubes		96 个	48 个
Buffer SPL		80 ml	40 ml
Buffer PCI		80 ml	40 ml
Proteinase K		50 mg	24 mg
RNase A		20 mg	10 mg
Protease Dissolve Buffer		15 ml	5 ml
8联磁力外套		12 个	24 个
预装试剂板	第1/7排孔: 600µl Buffer MLBN	6 块	48 条
	第2/8排孔: 500µl Buffer BW1		
	第3/9排孔: 500µl Buffer BW1		
	第4/10排孔: 500µl Buffer GW2 20µl MagPure Particles		
	第5/11排孔: 500µl Buffer GW2		
	第6/12排孔: 90µl Elution Buffer		

保存条件

本产品室温运输和保存时, 把 Buffer PCI、Proteinase K、RNase A 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。
- 溶解 Proteinase K (20mg/ml): 加入适量的 Protease Dissolve Buffer 至 Proteinase K 干粉中至终浓度为 20mg/ml, 轻轻颠倒让蛋白酶 K 充分溶解。分装保存-20℃。
- 溶解 RNase A (15mg/ml): 加入适量的 Protease Dissolve Buffer 溶解 RNase A 至终浓度为 15mg/ml, 颠倒溶解后, 保存于-20~8℃。

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 匀浆管中, 加入 50~75mg 动物粪便、100~150mg 人体粪便、0.15~0.2ml 粪便悬液, 然后加入 0.6ml Buffer SPL 和 0.6ml Buffer PCI, 盖紧盖子。
 - **粪便保存管(裂解型)**
在 2ml 匀浆管中, 转移 0.3ml 粪便保存液 (含粪便固体物), 加入 0.3ml Buffer SPL 和 0.6ml Buffer PCI, 盖紧盖子。
 - **分泌液、组织匀浆液、发酵液等液体样品**
在 2ml 匀浆管中, 加入 0.3ml 分泌液、组织匀浆液等液体样品, 加入 0.3ml Buffer SPL 和 0.6ml Buffer PCI, 盖紧盖子。
2. **根据实验室条件进行裂解。**
 - 涡旋: 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: 把准备好的样品转移至珠磨机进行珠磨。举例: 用 FastPrep-24® (MP)时, 推荐速度为 6.0, 时间为 60 秒, 珠磨 2 次。
3. 65°C 水浴 20 分钟, 期间颠倒混匀数次。
4. $\geq 14,000 \times g$ 离心 10 分钟, 备用。

第二部分: 单管操作

1. 转移 400 μ l 上清液至 2.0ml 离心管中, 加入 10 μ l RNase A, 混匀, 室温放置 10 分钟。
2. 加入 20 μ l Proteinase K、20 μ l MagPure Particles 和 600 μ l Buffer MLBN 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。
若上清液中富含色素时, 用 600 μ l Buffer GXP 代替 Buffer MLBN, 可以提高 DNA 纯度。
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 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。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: 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. 转移 400 μ l 上清液至 2.0ml 离心管中，加入 10 μ l RNase A，混匀，室温放置 10 分钟。
3. 在第 1/7 排孔中，加入 20 μ l Proteinase K 和 400 μ l 上清液。
4. 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)。
5. 编写程序，并启动对应程序。约 30 分钟，提取结束。
6. 取出 96 孔板和磁力外套。
7. 把 DNA 转移至 1.5ml 离心管中，把产物保存于-20~8 $^{\circ}$ C。

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	500	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	60s	0	0	自动	/	/
4	清洗2	3	500	90s	8	0	0	60s	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	6min/晾干		0	0	0	自动	/	/
8	洗脱	6	100	360s	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	/	/