

M5 Hiper Magbead Stool DNA Kit

磁珠法粪便 DNA 提取试剂盒使用说明书

产品名称	单位	货号
M5 Hiper Magbead Stool DNA Kit	96T	MF857-01

【储存条件】 室温保存，保质期 12 个月。

【产品简介】

该试剂盒提供了一种简单、快速、高效的提取 DNA 方法，适用于从粪便中提取基因组 DNA。在高盐存在时，DNA 结合于硅基包被的 Magbeads 表面。漂洗后，高纯度的 DNA 被洗脱于 Buffer GE 或去离子水中。纯化得到的 DNA 纯度好（A260/280 的比值在 1.7-1.9 之间），完整度高（>15 kb），可用于二代测序、定量 PCR、芯片检测等下游实验。该试剂盒可与 32 通道核酸提取仪和 96 通道核酸提取仪进行匹配使用，简单、快速地进行高通量提取，大大降低了实验者的工作量和实验中的人为误差。

【产品组分】

Buffer SL	100 mL
Buffer GL	25ml
Buffer KCL	80 mL
Buffer GW1 (concentrate)	80 mL
Buffer GW2 (concentrate)	26 mL
Buffer MW3	80 mL
Buffer GE	30 mL
Proteinase K	2×25 mg
Proteinase K Storage Buffer	2×1.25 mL
Magbeads PN	2×1 mL

【自备设备和仪器】

- 1) 恒温混匀仪
- 2) 2/15 ml 磁力架
- 3) 32 通道核酸提取仪
- 4) 96 通道核酸提取仪
- 5) 96 DW Plate
- 6) 8 channel Comb
- 7) Spin tips pack
- 8) 无水乙醇,异丙醇

【实验前准备及重要注意事项】

向 25 mg Proteinase K 中加入 1.25 ml Proteinase K Storage Buffer 使其溶解，之后-20°C保存。配置好的 Proteinase K 溶液勿长时间室温放置，避免反复冻融，以免影响其活性。

第一次使用前按照试剂瓶标签向 Buffer GW1 和 Buffer GW2 中加入无水乙醇并做好标记。

Magbeads 严禁冰冻、离心。冰冻、离心可能会对 Magbeads 造成不可逆的损害。

【操作步骤】

一、手动单管操作

1. 向每个含粪便样品（0.2-0.3g）的离心管中加入 800 μ l Buffer SL 缓冲液。连续涡旋直至粪便样品充分均质化。
2. 将上述样本在恒温混匀仪上震荡 70°C，1200 rpm，5 分钟，随后 80°C，1200 rpm，10 分钟。14000 rpm 离心样品 1 分钟以沉淀粪便颗粒。
3. 将 20 μ l 蛋白酶 K 吸移到新的 1.5 ml 离心管中。
4. 将来自步骤 2 的 200 μ l 上清液吸移到含有蛋白酶 K 的 1.5 ml 离心管中。
5. 添加 200 μ l 的 Buffer GL 并涡旋 15 s。
6. 在恒温混匀仪上，80°C，1200 rpm，孵育 20 分钟。
7. 向裂解物中加入 200 μ l 异丙醇，涡旋混合。
8. 向步骤 7 的裂解液中加入 20 μ l Magbeads PN 涡旋震荡混匀 5 秒钟后将离心管放于 25°C、1600 rpm 的恒温混匀仪上震荡混匀 5 分钟或将离心管连续颠倒混匀 10 分钟。
9. 将离心管放于磁力架上静置 1 分钟，待 Magbeads 完全吸附于离心管侧壁后彻底弃去溶液（保持离心管固定于磁力架上）。
10. 将离心管从磁力架上取下，加入 750 μ l Buffer KCL 后涡旋点震 1 分钟或涡旋振荡 5 秒钟后放于 25°C、1600 rpm 的恒温混匀仪上震荡混匀 2 分钟（震荡过程中确保 Magbeads 处于混匀状态）。之后将离心管放于磁力架上静置 1 分钟，待 Magbeads 完全吸附于离心管侧壁后轻轻颠倒磁力架将离心管盖上的杂质洗落后彻底弃去溶液（保持离心管固定于磁力架上）。
11. 将离心管从磁力架上取下，加入 750 μ l Buffer GW1（使用前请检查是否已加入无水乙醇）后涡旋点震 1 分钟或涡旋振荡 5 秒钟后放于 25°C、1600 rpm 的恒温混匀仪上震荡混匀 2 分钟（震荡过程中确保 Magbeads 处于混匀状态）。之后将离心管放于磁力架上静置 1 分钟，待 Magbeads 完全吸附于离心管侧壁后轻轻颠倒磁力架将离心管盖上的杂质洗落后彻底弃去溶液（保持离心管固定于磁力架上）。
12. 将离心管从磁力架上取下，加入 750 μ l Buffer GW2（使用前请检查是否已加入无水乙醇）后涡旋点震 1 分钟或涡旋振荡 5 秒钟后放于 25°C、1600 rpm 的恒温混匀仪上震荡混匀 2 分钟（震荡过程中确保 Magbeads 处于混匀状态）。之后将离心管放于磁力架上静置 1 分钟，待 Magbeads 完全吸附于离心管侧壁后轻轻颠倒磁力架将离心管盖上的杂质洗落后彻底弃去溶液（保持离心管固定于磁力架上）。
13. 保持离心管固定于磁力架上，向离心管中加入 750 μ l Buffer MW3，待悬起的磁珠重新吸附于磁力架上后立即充分弃去溶液，用移液器进一步去除离心管管底和管盖上的溶液。
14. 将离心管从磁力架上取下，加入 50 μ l-200 μ l Buffer GE。涡旋震荡使磁珠完全悬浮于洗脱液中后将其放于 56°C、1600 rpm 的恒温混匀仪上震荡洗脱 10 分钟，或将离心管放于 56°C 水浴锅中孵育 10 分钟，期间每隔 3 分钟涡旋震荡 10 秒钟。
15. 将离心管放于磁力架上静置 2 分钟，待 Magbeads 完全吸附于离心管侧壁后用移液器将洗脱液转移至新的离心管中-20°C 保存备用。

二、与 32 通道核酸提取仪配套操作

1. 向每个含粪便样品（0.2-0.3 g）的离心管中加入 800 μ l Buffer SL 缓冲液。连续涡旋直至粪便样品充分均质化。
2. 将上述样本在恒温混匀仪上震荡 70°C，1200 rpm，5 分钟，随后 80°C，1200 rpm，10 分钟。14000 rpm 离心样品 1 分钟以沉淀粪便颗粒，上清备用。
3. 按下表向 96DW 深孔板中加入相应试剂（注意：1&7 Colume 按表中顺序添加试剂）

Position	Reagent
1&7 Colume	Proteinase K: 20 μ l Lysate: 200 μ l Buffer GL: 200 μ l
2&8 Colume	Buffer KCL: 750 μ l
3&9 Colume	Buffer GW1: 750 μ l
4&10 Colume	Buffer GW2: 750 μ l
5&11 Colume	Buffer MW3: 750 μ l
6&12 Colume	Buffer GE: 100 μ l

4. 将加入试剂的深孔板和磁套放于 32 通道核酸提取仪的相应位置，运行粪便提取程序。运行约 20 分钟，程序暂停，向 1&7 列各个样本中加入 220 μ l 事先配置好的 MagbeadsPN、异丙醇（20 μ l: 200 μ l）混合液后继续程序，约 40 分钟后程序运行结束。
5. 将深孔板 6&12 列中的洗脱产物转移至 1.5 ml 离心管中低温保存。

三、与 96 通道核酸提取仪配套操作

1. 向每个含粪便样品（0.2-0.3 g）的离心管中加入 800 μ l Buffer SL 缓冲液。连续涡旋直至粪便样品充分均质化。
2. 将上述样本在恒温混匀仪上震荡 70°C，1200 rpm，5 分钟，随后 80°C，1200 rpm，10 分钟。14000 rpm 离心样品 1 分钟以沉淀粪便颗粒，上清备用。
3. 按下表向 96DW 深孔板中加入相应试剂（注意：Plate1 按表中顺序添加试剂）

Position	Reagent
Plate 1	Proteinase K: 20 μ l Lysate: 200 μ l Buffer GL: 200 μ l
Plate 2	Buffer KCL: 750 μ l
Plate 3	Buffer GW1: 750 μ l
Plate 4	Buffer GW2: 750 μ l
Plate 5	Buffer MW3: 750 μ l
Plate 6	Buffer GE: 100 μ l

4. 将加入试剂的深孔板和磁套放于 96 通道核酸提取仪的相应位置，运行粪便提取程序。运行约 20 分钟，程序暂停，向 Plate 1 各个样本中加入 220 μ l 事先配置好的 MagbeadsPN、异丙醇（20 μ l: 200 μ l）混合液后继续程序，约 40 分钟后程序运行结束。
5. 将 Plate 6 中的洗脱产物转移至 1.5 ml 离心管中低温保存。

【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。