

## MagPure Environmental DNA Kits

### 磁珠法环境样品 DNA 提取试剂盒

本产品是专门为环境类样品的 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，粪便、食品、残渣，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	D6357-01	D6357-02	D6357-03
纯化次数	48 次	96 次	480 次
2ml Beads Tubes	48 次	96 次	480 次
MagPure Particles	2.5 ml	3.5 ml	17 ml
Buffer SOL	60 ml	100 ml	550 ml
Buffer SDS	6 ml	10 ml	55 ml
Reagent DX	1 ml	1.5 ml	5 ml
Buffer PS	10 ml	20 ml	100 ml
Absorber Solution	10 ml	20 ml	100 ml
Buffer GXP	70 ml	150 ml	2 x 400 ml
Buffer BW1 *	22 ml	44 ml	220 ml
Elution Buffer	40 ml	80 ml	400 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	D6357-TL-06 96 人份	D6357-S-48 48 人份
2ml Beads Tubes		96 个	48 个
Buffer SOL		100 ml	60 ml
Buffer SDS		10 ml	6 ml
Reagent DX		1.5 ml	1.5 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 GXP	6 块	48 条
	第2/8排孔: 500µl Buffer GXP		
	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: 90µl Elution Buffer		

## 保存条件

本产品室温运输, 收到产品后, 把 Absorber Solution 保存于 2-8°C, 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

- 配制 Buffer SOL Plus: 实验前, 取新的离心管, 按 1ml Buffer SOL 加入 50µl Buffer SDS 和 5µl Reagent DX, 颠倒混匀。
  1. 根据样品类型进行样品前处理
    - 固体样品 (土壤类): 在 2ml 匀浆管中, 加入 0.25-0.5g 土壤, 加入 0.8ml Buffer SOL Plus。
    - 固体样品 (粪便类): 在 2ml 匀浆管中, 加入 50~150mg 粪便, 加入 1.2ml Buffer SOL Plus。

- **粪便悬液:** 在 2ml 匀浆管中, 加入 0.5ml 粪便悬液, 加入 0.6ml Buffer SOL Plus。
  - **固体样品 (食物、发酵固体、其它环境类样品):** 在 2ml 匀浆管中, 加入 0.2g 食物、发酵物残渣或环境类样品, 加入 1.0ml Buffer SOL Plus。
  - **液体样品:** 在 2ml 匀浆管中, 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 600 $\mu$ l Buffer SOL Plus。
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°C 水浴 20 分钟。13,000  $\times$  g 离心 3 分钟。
  4. 转移 0.5ml 上清液至新的离心管中。加入 150 $\mu$ l Buffer PS, 涡旋 10 秒。加入 150 $\mu$ l Absorber Solution, 涡旋混匀 10 秒, 冰上放置 10 分钟。
  5. 13,000  $\times$  g 离心 10 分钟, 转移 600 $\mu$ l 上清液至 2.0ml 离心管中。

## 方案 1. 单管操作

1. 在 1.5ml 离心管中, 加入 30 $\mu$ l MagPure Particles 和 600 $\mu$ l Buffer GXP。
2. 转移第一部分准备的上清液 500~600 $\mu$ l 上清液 (第 5 步) 至含有 GXP 和磁珠的离心管中。颠倒混匀 10-15 次, 室温放置 5~10 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 GXP, 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 600 $\mu$ 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 600 $\mu$ 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 600 $\mu$ 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°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 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 $^{\circ}$ 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	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	6min/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	/	/