



Magbead Soil And Stool DNA Kit

磁珠法土壤与粪便DNA提取试剂盒

目录号： CW2556M (96 preps)

保存条件： Buffer RIL 2-8℃, 其他组分常温

产品内容

Component	CW2556M 96 preps
Buffer QSL	85 mL
Buffer RIL	20 mL
Buffer ML	18 mL
Buffer GW1 (concentrate)	80 mL
Buffer GW2 (concentrate)	50 mL
Buffer EBL	25 mL
Magbeads SN	2×1 mL
RNase A	450 μL
Lysis Tubes II	96

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，适用于土壤和粪便样本。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 EBL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CWE2100或CWE3200 32通道核酸提取仪和CWE9600或CWE960 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。

自备仪器、试剂

1. 恒温混匀仪——货号：CW2593
2. 2/15 mL磁力架——货号：CW2594
3. 32通道核酸提取仪——货号：CWE2100或CWE3200
4. 96通道核酸提取仪——货号：CWE9600或CWE960
5. 96 DW Plate——货号：CW2523
6. 8 channel Comb——货号：CW2524
7. Spin tips pack——货号：CW2532
8. 无水乙醇，异丙醇
9. 涡旋振荡仪或组织研磨仪

注意事项

1. 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。
2. 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

1. 样本前处理

- 1.1 短暂离心Lysis Tube以使珠子沉淀在底部。
- 1.2 A.向 Lysis Tube中加入0.1-0.3g土壤或粪便样本，加入740-820 μL Buffer QSL与4 μL RNase A，旋紧管盖，短暂涡旋以混合。
B.若为非裂解型粪便保存液（如CWY041S和CWY041M）保存的粪便样本，向Lysis Tube中加入200 μL - 600 μL 固液混合物，13000 rpm离心1 min，弃掉保存液（若离心后的固体量过少，可再次富集，但不宜超过0.3 g）。加入620 μL Buffer QSL和4 μL RNase A，旋紧管盖，短暂涡旋以混合。
- 1.3 将Lysis Tube固定在装有2 mL适配器的振荡研磨装置中，并根据您的设备使用优化的研磨条件进行处理（参见附录）。
- 1.4 将Lysis Tube在恒温混匀仪上以70 $^{\circ}\text{C}$ ，1200 rpm振荡10 min。随后13000 rpm离心2 min以沉淀固体颗粒。转移540 μL 上清液至新的2 mL离心管。
- 1.5 加入180 μL Buffer RIL，涡旋5 sec，13000 rpm离心2 min。
注意：**Buffer RIL**待即将使用前取出，用完立即放在2-8 $^{\circ}\text{C}$ 储存。
- 1.6 手动提取按第2部分操作，全自动核酸提取仪按第3或4部分操作。

2. 手动提取

- 2.1 在离心管中依次加入160 μL Buffer ML、480 μL 步骤1.5的上清液、320 μL 异丙醇、20 μL Magbeads SN，涡旋振荡混匀5 sec后将离心管放于25 $^{\circ}\text{C}$ 、1600 rpm的恒温混匀仪上振荡混匀10 min。

注意：**Magbeads SN**加入前需涡旋振荡20秒使其充分混匀。**Magbeads SN**可与异丙醇按照上述体积根据样本数量预混然后加入。

- 2.2 将离心管放于磁力架上静置1 min，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）。
- 2.3 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 min或涡旋振荡5 sec后放于25 $^{\circ}$ C、1600 rpm的恒温混匀仪上振荡混匀2 min（振荡过程中确保Magbeads处于混匀状态）。之后将离心管放于磁力架上静置1 min，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）。
- 2.4 重复步骤2.3。
- 2.5 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 min或涡旋振荡5秒钟后放于25 $^{\circ}$ C、1600 rpm的恒温混匀仪上振荡混匀2 min（振荡过程中确保Magbeads处于混匀状态）。之后将离心管放于磁力架上静置1 min，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）。
- 2.6 重复步骤2.5。
- 2.7 保持离心管固定于磁力架上，用移液器进一步去除离心管管底和管盖上的溶液，之后室温放置5-10分钟，使乙醇挥发干净（肉眼观察磁珠表面变成哑光且磁珠无干裂）。
- 2.8 将离心管从磁力架上取下，加入50 -200 μ L Buffer EBL。涡旋振荡使磁珠完全悬浮于洗脱液中后将其放于56 $^{\circ}$ C、1600 rpm的恒温混匀仪上振荡洗脱10 min，或将离心管放于56 $^{\circ}$ C水浴锅中孵育10 min，期间每隔3 min涡旋振荡10 sec。
- 2.9 将离心管放于磁力架上静置2 min，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 $^{\circ}$ C保存备用。

3. 与CWE2100或CWE3200匹配

- 3.1 按下表向96DW深孔板中加入相应试剂。

Position	Reagent
1&7 Colume	Buffer ML: 160 μ L Lysate: 480 μ L 异丙醇: 320 μ L
2&8 Colume	Buffer GW1: 750 μ L
3&9 Colume	Buffer GW1: 750 μ L
4&10 Colume	Buffer GW2: 750 μ L Magbeads SN: 20 μ L
5&11 Colume	Buffer GW2: 750 μ L
6&12 Colume	Buffer EBL: 100 μ L

注意：1. 1&7 Colume中试剂按照顺序依次加入。

2. GW1、GW2使用前请检查是否已加入无水乙醇。

3. Buffer GW2与Magbeads SN可按照上述体积根据样本数量预混，使用前涡旋10 sec混匀。

3.2 将加入试剂的深孔板和磁套放于CWE2100或CWE3200的相应位置，运行提取程序。约40 min后程序运行结束。

3.3 将深孔板6&12列中的洗脱产物转移至1.5 mL离心管中-20℃保存。

4. 与CWE9600或CWE960匹配

4.1 按下表向96DW深孔板中加入相应试剂。

Position	Reagent
Plate 1	Buffer ML: 160 µL
	Lysate: 480 µl
	异丙醇: 320 µL
Plate 2	Buffer GW1: 750 µL
Plate 3	Buffer GW1: 750 µL
Plate 4	Buffer GW2: 750 µL
	Magbeads SN: 20 µL
Plate 5	Buffer GW2: 750 µL
Plate 6	Buffer EBL: 100 µL

注意：1. Plate1中试剂按照顺序依次加入。

2. GW1、GW2使用前请检查是否已加入无水乙醇。

3. Buffer GW2与Magbeads SN可按照上述体积根据样本数量预混，使用前涡旋 10 sec混匀。

4.2 将加入试剂的深孔板和磁套放于CWE960（磁套置于盘位4）或CWE9600（磁套置于盘位8）的相应位置，运行提取程序，约50 min后程序运行结束。

4.3 将深孔板Plate 6中的洗脱产物转移至1.5 mL离心管中-20℃保存。

附录：

使用以下方法之一研磨样本：

1. 在涡旋振荡仪上以最大速度手动涡旋振荡10 min。
2. 在搭配有1.5-2 mL水平离心管支架的涡旋振荡仪上以最大速度振荡10 min（让Lysis Tube保持水平放置）。若样本数量超过12，延长5-10 min。
例如使用Scientific Industries或Mobio的Vortex-Genie2 涡旋振荡仪。
3. 使用Qiagen的TissueLyser II时，以25Hz研磨10 min。
4. 使用Qiagen的PowerLyzer 24 Homogenizer时，以2000 rpm 的速度均质化30 sec，暂停30 sec，然后以2000 rpm的速度再次均质化30 sec。
5. 使用MP Biomedicals的FastPrep-24时，推荐速度为 6.0，时间为 40 sec。