



Magbead Soil And Stool DNA Kit

磁珠法土壤与粪便DNA提取试剂盒

Cat. No. CW2556M

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，采用独特的去抑制剂方法，有效的去除常见抑制物，同时配备的研磨珠可高效裂解样本，充分的对核酸进行释放。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，完整度高，可用于二代测序与三代测序（16S、18S、ITS或者指定区域扩增）、二代测序（宏基因组）、定量PCR、芯片检测等下游实验。

该试剂盒可与32、96通道核酸提取仪进行搭配使用，简单、快速地进行高通量提取，大大提高了实验者的工作效率、降低了实验中的人为误差。

保存条件： Buffer RIL 2-8℃,其他组分室温（15-30℃）。

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 Tubes

自备试剂和仪器

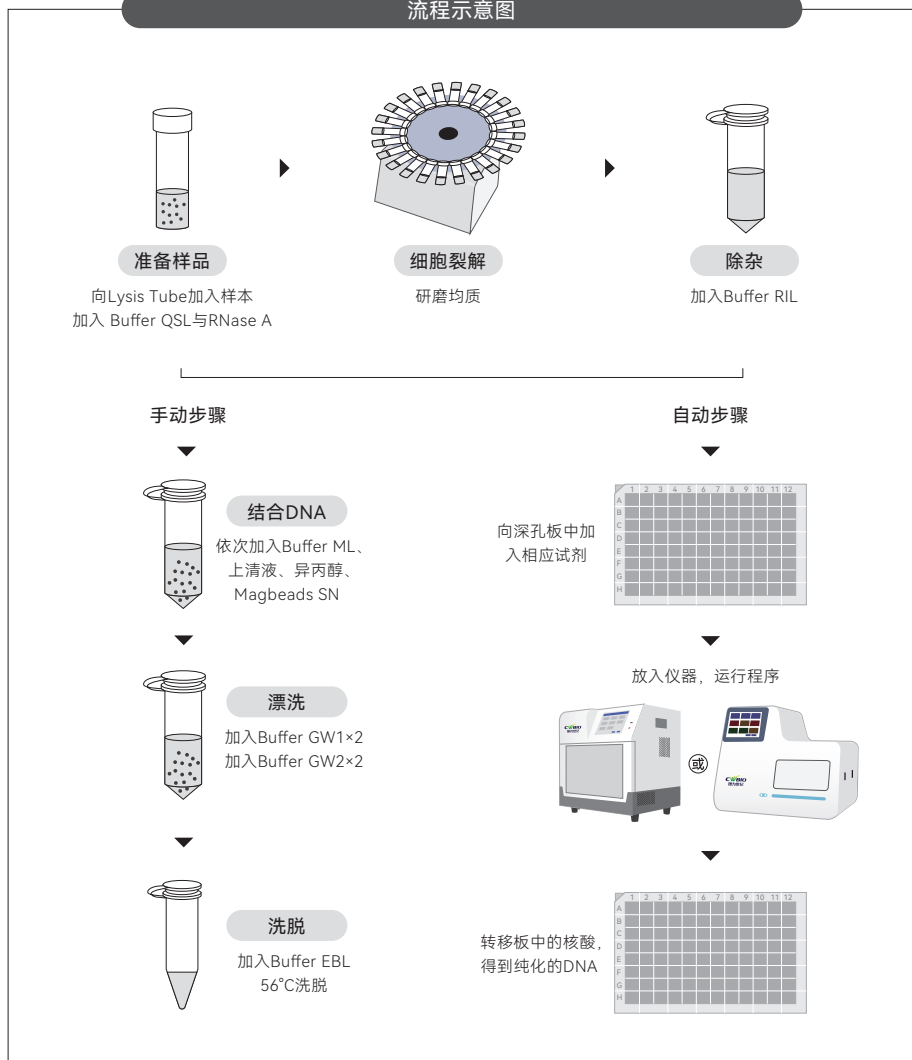
1. 恒温混匀仪——货号：CWE1002
2. 1.5/2 mL磁力架——货号：CWE4001
3. 32通道核酸提取仪——货号：CWE2100或CWE3200
4. 96通道核酸提取仪——货号：CWE9600或CWE960
5. 96 DW Plate——货号：CW2523
6. 8 channel Comb——货号：CW2524
7. 96 Tips ——货号：CW2532或CW2546
8. 无水乙醇，异丙醇
9. 涡旋振荡仪或组织研磨仪

注意事项

1. 第一次使用前按照试剂瓶标签向Buffer GW1中加入104mL无水乙醇并做好标记。
2. 第一次使用前按照试剂瓶标签向Buffer GW2中加入116mL无水乙醇并做好标记。
3. Magbeads SN每次使用时需将磁珠进行涡旋振荡，直到将磁珠完全混合均匀。
4. Magbeads SN严禁冰冻、离心。冰冻、离心可能会对Magbeads造成不可逆的损害。
5. 检查Buffer QSL是否出现结晶或沉淀，如有结晶或沉淀现象，可加热溶解。

操作步骤

流程示意图



一、裂解样品

1. 短暂离心 Lysis Tube 以使珠子沉淀在底部。
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1min，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 0.3g）。加入 620 μL Buffer QSL和4 μL RNase A，旋紧管盖，短暂涡旋以混合。
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）。
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。
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。
6. 手动提取按第二部分操作，全自动核酸提取仪按第三或四部分操作。

二、手动提取

结合DNA

1. 在离心管中依次加入160 μL Buffer ML、480 μL 裂解样品步骤5的上清液、320 μL 异丙醇、20 μL Magbeads SN，涡旋振荡混匀5 sec 后将离心管在25 $^{\circ}\text{C}$ 、1600 rpm的恒温混匀仪上振荡混匀10min。
注意：Magbeads SN加入前需涡旋振荡20 sec 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. 将离心管放于磁力架上静置1min，待 Magbeads SN 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）。

漂洗DNA

1. 将离心管从磁力架上取下，加入750 μL 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 $^{\circ}\text{C}$ 、1600 rpm的恒温混匀仪上振荡混匀2 min（振荡过程中确保 Magbeads SN 处于混匀状态）。之后将离心管放于磁力架上静置1 min，待 Magbeads SN 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. 重复步骤1。
3. 将离心管从磁力架上取下，加入750 μL 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 sec 后放于25 $^{\circ}\text{C}$ 、1600 rpm 的恒温混匀仪上振荡混匀2 min（振荡过程中确保 Magbeads SN 处于混匀状态）。之后将离心管放于磁力架上静置1 min，待Magbeads SN 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）。
4. 重复步骤3。
5. 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）。

洗脱

1. 将离心管从磁力架上取下，加入50-200 μL Buffer EBL。涡旋振荡使磁珠完全悬浮于洗脱液中后将其放于56 $^{\circ}\text{C}$ 、1600 rpm 的恒温混匀仪上振荡洗脱10 min，或将离心管放于56 $^{\circ}\text{C}$ 水浴锅中孵育10 min，期间每隔3 min 涡旋振荡10 sec。
2. 将离心管放于磁力架上静置2 min，待Magbeads SN 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-20 \pm 5 $^{\circ}\text{C}$ 中保存备用。

三、与CWE2100或CWE3200匹配

1. 按下表向96 DW 深孔板中加入相应试剂。

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

注意：

- a. 1&7 Column 中试剂按照顺序依次加入。
- b. GW1、GW2使用前请检查是否已加入无水乙醇。
- c. 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。

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. 将深孔板6&12列中的洗脱产物转移至1.5mL离心管中-20±5℃中保存备用。

四、与CWE9600或CWE960匹配

1. 按下表向96 DW 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:

- a. Plate1中试剂按照顺序依次加入。
 - b. GW1、GW2使用前请检查是否已加入无水乙醇。
 - c. 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。
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。
 3. 将深孔板Plate 6中的洗脱产物转移至1.5mL离心管中-20±5℃中保存备用。

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10min。
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25 Hz 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。

相关产品

Cat. No.	产品名称
CWY041	一次性使用粪便采集保存管
CW3347	SuperFastStar Probe Mixture
CW3045	Fast DNA Library Prep Set for Illumina&MGI
CW3048	CWseq Universal DirectFast DNA Library Prep Kit (Illumina & MGI)