

MolPure® Mag Soil/Stool DNA Kit

磁珠法土壤/粪便 DNA 提取试剂盒

产品简介

磁珠法土壤/粪便 DNA 提取试剂盒适用于土壤、粪便、水样、水体滤膜、细菌、真菌等环境样本基因组 DNA 的提取。采用独特的磁珠和精心优化的缓冲体系，可最大限度的分离纯化样本中的微生物基因组 DNA。提取的核酸纯度高，质量稳定可靠，适用于各种下游应用实验，如酶切、PCR、建库等。配合磁珠法自动化提取仪器使用，可实现核酸的高通量提取。

产品信息

货号	18526ES20/18526ES50/18526ES70
规格	20T/50T/200T

组分信息

类别	组分编号	组分名称	18526ES20	18526ES50	18526ES70
Part I	18526-A	样本缓冲液	14 mL/瓶×1	34mL/瓶×1	136 mL/瓶×1
	18526-B	样本裂解液	4 mL/瓶×1	9 mL/瓶×1	36mL/瓶×1
	18526-D	结合液	15mL/瓶×1	36mL/瓶×1	144mL/瓶×1
	18526-E	洗涤液 A	6mL/瓶×1	14mL/瓶×1	60mL/瓶×1
	18526-F	洗涤液 B	6mL/瓶×1	14mL/瓶×1	56mL/瓶×1
	18526-G	洗涤液 C	5mL/瓶×1	14mL/瓶×1	50mL/瓶×1
	18526-H	洗脱液	3mL/瓶×1	7mL/瓶×1	28mL/瓶×1
	18526-I	磁珠悬浮液	700μL/管×1	1.5mL/管×1	6mL/瓶×1
	18526-J	研磨管	20 个	50 个	200 个
Part II	18526-C	去蛋白液	10mL/瓶×1	24mL/瓶×1	96mL/瓶×1

注：20T：使用前洗涤液 A(18526-E)每瓶需加入 9mL 无水乙醇，洗涤液 C(18526-G)每瓶需加入 20mL 无水乙醇

50T：使用前洗涤液 A(18526-E)每瓶需加入 21mL 无水乙醇，洗涤液 C(18526-G)每瓶需加入 56mL 无水乙醇

200T：使用前洗涤液 A(18526-E)每瓶需加入 90mL 无水乙醇，洗涤液 C(18526-G)每瓶需加入 200mL 无水乙醇

储存条件

C 组分（去蛋白液）2~8°C 保存，其余组分室温保存，有效期 12 个月。

备注：C 组分（去蛋白液）冰袋运输，其余组分室温运输。

注意事项

1. 样本缓冲液和去蛋白液使用前需充分摇匀，去蛋白液需 2~8°C 保存。
2. 注意观察样本裂解液和结合液是否有析出或浑浊，如有上述情况可 37°C 加热至溶液澄清，避免影响使用效果。
3. 首次使用前请按瓶身标签注明的体积向洗涤液 A 和洗涤液 C 瓶中加入无水乙醇，并做好标记。
4. 洗脱时可能存在磁珠残留，吸取样本时应尽量避免吸入磁珠。
5. 为了您的安全和健康，请穿实验服并佩戴一次性手套操作。

6. 本产品仅作科研用途!

使用说明

手动操作步骤

土壤、粪便、水样、滤膜等样本处理

1、根据样本类型进行样本前处理

- (1) 土壤样本（固体）：加入 0.1~0.5 g 土壤样本至研磨管中，加入 640 μ L 样本缓冲液；
- (2) 粪便样本（固体）：加入~0.1 g 粪便样本至研磨管中，加入 640 μ L 样本缓冲液；
- (3) 粪便悬液：加入 200 μ L 粪便悬液本至研磨管中，加入 440 μ L 样本缓冲液；
- (4) 水样：加入 100~200 μ L 水样至研磨管中，加入 640 μ L 样本缓冲液；

【注】：建议对水样进行适当浓缩：

方式一：取 1 mL 水体样本于离心管中，13000g 离心 1 min，去除 900 μ L 上清，将剩余液体与沉淀涡旋混匀，加入研磨管中，加入 640 μ L 样本缓冲液（可根据样本实际情况提高或减小浓缩比例，最终得到 100 μ L 浓缩样本即可）；

方式二：取适量水样过滤膜，将滤膜剪碎置于研磨管中，加入 640 μ L 样本缓冲液；

- (5) 水体滤膜：将滤膜适当剪碎放入研磨管中，加入 640 μ L 样本缓冲液；

2、加入 160 μ L 样本裂解液，加入 5 μ L RNase A（可选步骤，试剂自备，货号：10406ES03），将研磨管置于涡旋振荡仪器上，高速涡旋 10 min 裂解样本。

【注】：涡旋过程中应适当颠倒摇晃，防止样本沉在管底。

3、于 70°C 孵育 10 min，孵育期间可短暂涡旋一次研磨管，使样本裂解充分。25°C 14000 g 离心 1 min，转移全部上清至 1.5 mL 离心管。

4、加入 300 μ L 去蛋白液，涡旋 5 sec，置于 -20°C 冰箱 5 min，然后立即 25°C 14000 g 离心 2 min，转移 500 μ L 上清液至干净的 1.5 mL 离心管。

【注】：去蛋白液使用前充分摇匀；加入去蛋白液后低温处理，更有利于去除杂质。

5、加入 500 μ L 结合液和 20 μ L 磁珠悬浮液（使用前需充分振荡混匀），25°C 1600 rpm 涡旋 5 min。置于磁力架上吸附 1 min，吸弃溶液；

6、加入 600 μ L 洗涤液 A，25°C 1600 rpm 涡旋 1 min。置于磁力架上吸附 1min，吸弃溶液；

7、加入 250 μ L 洗涤液 B，25°C 1600 rpm 涡旋 1 min，静置 5min。置于磁力架上吸附 1min，吸弃溶液；

8、加入 600 μ L 洗涤液 C，25°C 1600 rpm 涡旋 1 min。置于磁力架上吸附 1min，吸弃溶液；

9、重复步骤 8。

10、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 min。

11、加入 70~100 μ L 洗脱液，涡旋打散磁珠。65°C 振荡温育 5 min。若无振荡混匀器，其间涡旋混匀 2~3 次。

12、转移至磁力架，直至磁珠完全吸附后，小心将液体转移至新的离心管，即得到核酸溶液。

13、核酸溶液可置于 -20°C 短期保存，-80°C 长期保存。

真菌、细菌等样本处理

1、取 1-2 mL 菌液(<2 x 10⁹ 个细菌)至 2 mL 离心管中，10000 g 离心 1 min，倒弃培养液。加入 160 μ L 样本裂解液。

2、将研磨管中玻璃珠倒入 2 mL 离心管中。

（可选步骤：加入 5 μ L RNase A，试剂自备，货号：10406ES03）。

- 3、将研磨管置于涡旋振荡仪器上，高速涡旋 10 min 裂解样本。
- 4、于 70°C 孵育 10 min。
(可选) 处理难裂解的革兰氏阳性细菌时：90°C 再温浴 10 min。
- 5、14000 g 离心 1 min，转移全部上清至 1.5 mL 离心管中。
- 6、加入 500 μ L 结合液和 20 μ L 磁珠悬浮液（使用前需充分振荡混匀），涡旋 5 min。置于磁力架上吸附 1 min，吸弃溶液；
- 7、加入 600 μ L 洗涤液 A，涡旋 1 min。置于磁力架上吸附 1 min，吸弃溶液；
- 8、加入 250 μ L 洗涤液 B，涡旋 1 min，静置 5 min。置于磁力架上吸附 1 min，吸弃溶液；
- 9、加入 600 μ L 洗涤液 C，涡旋 1 min。置于磁力架上吸附 1 min，吸弃溶液；
- 10、重复步骤 9。
- 11、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 min。
- 12、加入 70~100 μ L 洗脱液，涡旋打散磁珠。65°C 振荡温育 5 min。若无振荡混匀器，其间涡旋混匀 2~3 次。
- 13、转移至磁力架，收集上清液于离心管，即得到核酸溶液。
- 14、核酸溶液可置于 -20°C 短期保存，-80°C 长期保存。

自动化操作步骤

第一部分：样本处理

土壤、粪便、水样、滤膜等样本处理

1.1 根据样本类型进行样本前处理

- (1) 土壤样本（固体）：加入 0.1~0.5 g 土壤样本至研磨管中，加入 640 μ L 样本缓冲液；
- (2) 粪便样本（固体）：加入 ~0.1 g 粪便样本至研磨管中，加入 640 μ L 样本缓冲液；
- (3) 粪便悬液：加入 200 μ L 粪便悬液本至研磨管中，加入 440 μ L 样本缓冲液；
- (4) 水样：加入 100~200 μ L 水样至研磨管中，加入 640 μ L 样本缓冲液；

【注】：建议对水样进行适当浓缩：

方式一：取 1 mL 水体样本于离心管中，13000g 离心 1 min，去除 900 μ L 上清，将剩余液体与沉淀涡旋混匀，加入研磨管中，加入 640 μ L 样本缓冲液（可根据样本实际情况提高或减小浓缩比例，最终得到 100 μ L 浓缩样本即可）；

方式二：取适量水样过滤膜，将滤膜剪碎置于研磨管中，加入 640 μ L 样本缓冲液；

- (5) 水体滤膜：将滤膜适当剪碎放入研磨管中，加入 640 μ L 样本缓冲液；

1.2 加入 160 μ L 样本裂解液，加入 5 μ L RNase A（可选步骤，试剂自备，货号：10406ES03），将研磨管置于涡旋振荡仪器上，高速涡旋 10 min 裂解样本。

【注】：涡旋过程中应适当颠倒摇晃，防止样本沉在管底。

1.3 于 70°C 孵育 10 min，孵育期间可短暂涡旋一次研磨管，使样本裂解充分。25°C 14000 g 离心 1 min，转移全部上清至 1.5 mL 离心管。

1.4 加入 300 μ L 去蛋白液，涡旋 5 sec，置于 -20°C 冰箱 5 min，然后立即 25°C 14000 g 离心 2 min，转移 500 μ L 上清液至干净的 1.5 mL 离心管。

【注】：去蛋白液使用前充分摇匀；加入去蛋白液后低温处理，更有利于去除杂质。

真菌、细菌等样本处理

- 2.1 取 1-2 mL 菌液($<2 \times 10^9$ 个细菌)至 2 mL 离心管中, 10000 g 离心 1 min, 倒弃培养液。加入 160 μ L 样本裂解液。
- 2.2 将研磨管中玻璃珠倒入 2 mL 离心管中。
(可选步骤: 加入 5 μ L RNase A, 试剂自备, 货号: 10406ES03)。
- 2.3 将研磨管置于涡旋振荡仪器上, 高速涡旋 10 min 裂解样本。
- 2.4 于 70°C 孵育 10 min。
(可选) 处理难裂解的革兰氏阳性细菌时: 90°C 再温浴 10 min。
- 2.5 14000 g 离心 1 min, 转移全部上清至 1.5 mL 离心管中。

第二部分: 核酸提取仪操作

翌圣 AP-16S 核酸提取仪操作

3.1 将瓶装试剂分装至 96 孔板对应的孔中, 按如下表格分装:

列	名称	试剂名称	投入量	备注
1/7	结合	结合液	500 μ L	
2/8	漂洗 1	洗涤液 A	600 μ L	
3/9	漂洗 2	洗涤液 B	250 μ L	磁珠加入前充分混匀
4/10	漂洗 3	洗涤液 C+磁珠	600 μ L + 20 μ L 磁珠	
5/11	洗脱	洗脱液	70 μ L	
6/12	漂洗 4	洗涤液 C	600 μ L	

- 3.2 转移样本上清液 (土壤等样本: 取 500 μ L 步骤 1.4 所得上清, 细菌真菌等样本: 取步骤 2.5 所得全部上清) 至 1/7 列对应孔位中。
- 3.3 把磁棒套插到仪器中, 把板子放到仪器相应位置。启动程序。
- 3.4 程序结束后, 将洗脱孔 (5/11 列) 中的洗脱液转移至新的离心管中, 溶液可置于 -20°C 短期保存, -80°C 长期保存。

翌圣 16 通道自动化核酸提取仪 AP-16S 提取程序

步骤	工位	等待时间 (min)	混合模式	混合时间	是否暂停	吸磁时间 (min)	体积(μ L)	温度
第 1 步	4	0	3	30 s	否	1 min	600 μ L	-
第 2 步	1	0	2	10 min	否	1 min 30 s	1000 μ L	-
第 3 步	2	0	3	2 min	否	30 s	600 μ L	-
第 4 步	3	0	1	5 min	否	30 s	250 μ L	-
第 5 步	4	0	3	2 min	否	30 s	600 μ L	-
第 6 步	6	0	3	1 min 30 s	否	30 s	600 μ L	-
第 7 步	5	2min	4	6 min	否	1 min 30 s	70 μ L	65°C
第 8 步	6	0	3	10 s	否	0	600 μ L	-

翌圣 AP-48 核酸提取仪操作

4.1 将瓶装试剂分装至 96 孔板对应的孔中，按如下表格分装：

列	名称	试剂名称	投入量	备注
1/7	结合	结合液	500 μ L	
2/8	漂洗 1	洗涤液 A	600 μ L	
3/9	漂洗 2	洗涤液 B	250 μ L	磁珠加入前充分混匀
4/10	漂洗 3	洗涤液 C+磁珠	600 μ L + 20 μ L 磁珠	
5/11	洗脱	洗脱液	70 μ L	
6/12	漂洗 4	洗涤液 C	600 μ L	

4.2 转移样本上清液（土壤等样本：取 500 μ L 步骤 1.4 所得上清，细菌真菌等样本：取步骤 2.5 所得全部上清）至 1/7 列对应孔位中。

4.3 把磁棒套插到仪器中，把板子放到仪器相应位置。启动程序。

4.4 程序结束后，将洗脱孔（5/11 列）中的洗脱液转移至新的离心管中，溶液可置于 -20 $^{\circ}$ C 短期保存，-80 $^{\circ}$ C 长期保存。

翌圣 48 通道自动化核酸提取仪 AP-48 提取程序

步骤	工位	等待时间 (min)	混合模式	混合时间	是否暂停	吸磁时间 (min)	体积(μ L)	温度
第 1 步	4	0	3	30 s	否	1 min	600 μ L	-
第 2 步	1	0	2	10 min	否	1 min 30 s	1000 μ L	-
第 3 步	2	0	3	2 min	否	30 s	600 μ L	-
第 4 步	3	0	1	5 min	否	30 s	250 μ L	-
第 5 步	4	0	3	2 min	否	30 s	600 μ L	-
第 6 步	6	0	3	1 min 30 s	否	30 s	600 μ L	-
第 7 步	5	2min	4	6 min	否	1 min 30 s	70 μ L	65 $^{\circ}$ C
第 8 步	6	0	3	10 s	否	0	600 μ L	-

混合模式 1：混合速度 100000 10s

混合模式 2：混合速度 200000 10s

混合模式 3：混合速度 300000 10s

混合模式 4：混合速度 400000 10s

翌圣 AP-96N 核酸提取仪操作

5.1 将瓶装试剂分装至 96 孔板对应的孔中，按如下表格分装：

板位	板名称	试剂名称	投入量
1	结合板	样本上清	500 μ L
		结合液	500 μ L
2	漂洗板 1	洗涤液 A	600 μ L
3	漂洗板 2	洗涤液 B	250 μ L
4	漂洗板 3	洗涤液 C+磁珠	600 μ L+20 μ L 磁珠
5	漂洗板 4	洗涤液 C	600 μ L
6	洗脱板	洗脱液	70 μ L

注意：每个板子加入试剂的孔位需要一致。磁珠加入前充分混匀

5.2 转移样本上清液（土壤等样本：取 500 μ L 步骤 1.4 所得上清，细菌真菌等样本：取步骤 2.5 所得全部上清）至 1 号板对应孔位中。

5.3 把磁棒套插到仪器中。把 6 块板子放到仪器相应位置。启动程序。

5.4 程序结束后，将洗脱板中的洗脱液转移至新的离心管中，溶液可置于-20 $^{\circ}$ C短期保存，-80 $^{\circ}$ C长期保存。

翌圣 96 通道自动化核酸提取仪 AP-96N 提取程序

步骤	工位	等待时间 (min)	混合模式	混合时间	是否暂停	吸磁时间 (min)	体积(μ L)	温度
第 1 步	4	0	3	30 s	否	1 min	600 μ L	-
第 2 步	1	0	2	10 min	否	1 min 30 s	1000 μ L	-
第 3 步	2	0	3	2 min	否	30 s	600 μ L	-
第 4 步	3	0	1	5 min	否	30 s	250 μ L	-
第 5 步	4	0	3	2 min	否	30 s	600 μ L	-
第 6 步	5	0	3	1 min 30 s	否	30 s	600 μ L	-
第 7 步	6	2min	4	6 min	否	1 min 30 s	70 μ L	65 $^{\circ}$ C
第 8 步	4	0	3	10 s	否	0	600 μ L	-

混合模式 1：混合速度 100000 10s

混合模式 2：混合速度 200000 10s

混合模式 3：混合速度 300000 10s

混合模式 4：混合速度 400000 10s