

磁珠法粪便基因组DNA提取试剂盒（加强版）

MagBeads Faeces DNA Extraction Kit (Advanced Version)

【目录号】 FDE-5005、FDE-5010、FDE-5030、FDE-5100

【运输条件】 2~25℃；

【保存条件】 磁珠悬浮液4℃，其它组分室温；

【试剂盒组成】

Kit Component 试剂盒组成	FDE-5005 (50T)	FDE-5010 (100T)	FDE-5030 (300T)	FDE-5100 (1000T)
FDE Magnetic Beads 磁珠悬浮液	5mL	8mL	25mL	80mL
FDE Buffer1 裂解液 1	50mL	100mL	300mL	1000mL
FDE Buffer2 裂解液 2	15mL	25mL	75mL	250mL
Decolor Buffer 脱色缓冲液	1mL	2mL	3mL	10mL
Wash Buffer 1 清洗液 1	35mL	70mL	210mL	700mL
Wash Buffer 2 清洗液 2-浓缩液	40mL (加入 50mL 异丙醇)	80mL (加入 100mL 异丙醇)	215mL (加入 270mL 异丙醇)	400mL*2 (各加入 500mL 异丙醇)
Elute Buffer 洗脱液	5mL	10mL	30mL	100mL

【注意事项】

1. 磁珠悬浮液严禁反复冻融和离心，以免磁珠受到损害，使用前务必充分混匀；
2. 使用前请检查裂解液1/2及脱色缓冲液中是否出现结晶，如有请置于37℃环境中温热至重新溶解；
3. 清洗液2-浓缩液使用前请按照瓶身标签加入异丙醇，稀释、备用；
4. 本操作指南经本公司反复验证，使用前请仔细阅读，并且按照操作指南建议操作。

【产品简介】

本试剂盒适用于从各种形态粪便样本中分离纯化基因组DNA，尤其针对使用常规方法提取粪便样本所得DNA产物颜色较重的样本。试剂盒采用具有独特分离作用的纳米磁珠和缓冲液体系，特殊技术包埋的磁珠在特定条件下对核酸具有极强的富集能力，当条件改变时，磁珠会释放所吸附的核酸，从而达到快速分离纯化核酸的目的。提取所得基因组DNA产物，纯度优良，可应用于酶切、PCR、荧光定量PCR、文库构建、杂交、芯片检测和高通量测序等各种下游分子生物学实验。本试剂盒可手动法在EP管中进行操作，亦可配合市售磁珠法自动化核酸提取仪进行操作。

【核酸得量】

样本类型	样本量	DNA提取范围
干燥原便	50~100mg	5~40 μ g
新鲜原便	100~200mg	3~30 μ g
水样便	400 μ L	1~20 μ g

【自备试剂】

商业化“酚/氯仿/异戊醇, 25:24:1, v/v”试剂、异丙醇、80%乙醇、RNase A溶液(如需要, 100mg/mL, 分散液10mM Tris-HCl, 1mM EDTA, pH值8.0)。

【自备仪器&耗材】

仪器版：涡旋混合仪、高速离心机、96孔方孔圆底板、核酸提取仪及配套耗材。

手动版：涡旋混合仪、高速离心机、EP管、EP管用磁力架。

【仪器版操作步骤】

本操作以英芮诚ETP-300型全自动核酸提取仪为例，最大可同步完成32个样本的核酸提取工作。

1. 96孔板加液

参照下表用量向96孔板中分别加入相应试剂：

样本位	1、7	2、8	3、9	4、10	5、11	6、12
试剂	磁珠悬浮液 75 μ L 清洗液 1 600 μ L 异丙醇 100 μ L	异丙醇 350 μ L	清洗液 2 700 μ L	清洗液 2 700 μ L	80%乙醇 700 μ L	洗脱液 100 μ L

注：1) 吸取磁珠悬浮液前需充分摇晃均匀；2) 可使用排枪进行加液操作提高效率；3) 试剂加板完毕请尽快使用，防止醇挥发导致结果波动。

2. 样本准备

1) 干燥原便样本：取 50~100mg 干燥原便样本，转入 2.0mL EP 管中，加入 1mL 裂解液 1，置于组织研磨仪中用钢珠打碎，涡旋振荡约 1min 使体系充分混匀。

注：若无组织研磨仪，需将干燥原便样本研磨粉碎后再转入 EP 管中。

2) 新鲜原便样本：取 100~200mg 新鲜原便样本，转入 2.0mL EP 管中，加入 800μL 裂解液 1，涡旋振荡约 3min 使体系充分混匀（可在 EP 管中加入两粒钢珠增加混合力度）。

3) 水样便样本：将样本涡旋振荡充分混匀后，取约 400μL 水样便样本，转入 2.0mL EP 管中，加入 600μL 裂解液 1，上下颠倒摇晃均匀。

注：如需去除 RNA，以上步骤中需在加入裂解液后，额外加入 5μL RNase A 溶液。

3. 样本裂解

1) 向 EP 管中加入 600μL 酚/氯仿/异戊醇试剂（若提取革兰氏阳性菌等菌体较难裂解的 DNA，可在加入酚/氯仿/异戊醇试剂后继续加入 60μL Trizol 试剂），上下用力震荡，至体系呈现不会立即分层的均匀乳液状态。静置 20min 后，12,000rpm 离心 5~10min，转移 500μL 上清液至新的离心管（离心管中事先加入 10μL 脱色缓冲液）；

2) 加入 250μL 裂解液 2，涡旋混匀，12,000rpm 离心 5min 后待用。

4. 上机提取

从步骤 3 离心后的样本中吸取 500μL 上层清液，转移至准备好的 96 孔板第 2/8 列孔位中，将 96 孔板置于 ETP-300 型核酸提取仪中、插入磁棒套、调用“粪便核酸提取”程序并运行。

“粪便核酸提取”程序参数设置如下，如仪器程序参数与说明书不一致，请以说明书为准：

步骤编号	孔位	运行类型	振荡时间(秒)	分离时间(秒)	挥发时间(秒)	振荡幅度	振荡强度	一组温度	二组温度	三组温度	四组温度
1	1	磁珠转移	2	1	0	5	强	0	0	0	0
2	2	DNA 结合	180	1	0	5	中	0	0	0	0
3	1	清洗液 1	120	1	0	5	强	0	0	0	0
4	2	DNA 结合	480	1	0	5	中	0	0	0	0
5	1	清洗液 1	180	1	0	5	强	0	0	0	0
6	3	清洗液 2	180	1	0	5	强	0	0	0	0
7	4	清洗液 2	120	1	0	5	强	0	0	0	0
8	5	80%乙醇	60	1	300	5	强	0	0	0	0
9	6	洗脱	300	20	0	2	中	60°C	60°C	60°C	60°C
10	3	弃磁珠	5	0	0	5	强	0	0	0	0

5. 核酸转移

程序运行完毕，取下 96 孔板，将洗脱液转移至干净的 EP 管中，提取过程完毕。

【手动版操作步骤】

1. 样本裂解

参照【仪器版操作步骤】中**步骤 2**和**步骤 3**进行操作。

2. 核酸结合

从上步离心分层完毕的样本中吸取 500 μ L 上层清液，转入 2.0mL EP 管中，按照等体积加入异丙醇和 75 μ L 磁珠悬浮液，颠倒混匀后高速涡旋振荡 10min，然后静置 2min。

3. 磁性分离

将 EP 管置于磁力架上静置约 20s 至磁珠吸附完全，如 EP 管内盖有磁珠残液，可保持磁吸状态，整体上下颠倒 2~3 次，使磁珠被完全吸附，然后吸弃上清液勿损失磁珠。

4. 清洗

1) 向 EP 管中加入 700 μ L 清洗液 1，将 EP 管从磁力架上取下，剧烈摇动使磁珠充分分散后，涡旋震荡 1min，参照步骤 3 进行磁性分离，弃上清液。

2) 使用 700 μ L 清洗液 2，参照上步操作 2 次。

3) 使用 700 μ L 80%乙醇，参照上步操作 1 次。

5. 除醇

将除尽上清液后的 EP 管置于磁力架上，连同磁力架一起放入 45 $^{\circ}$ C 真空干燥箱中，干燥约 10min 至无明显乙醇味。

注：若无真空干燥箱，亦可在保持通风橱通风或电风扇的状态下静置约 10min，具体时间根据气温变化可能需要适当调整，以磁珠干燥完全、无乙醇味为原则。

6. 核酸洗脱

取出 EP 管，加入 100 μ L 洗脱液（或去离子水），将磁珠吹打混匀后，置于 65 $^{\circ}$ C 环境中加热洗脱 10min（隔 5min，摇匀因此），然后涡旋洗脱 2min。

7. 核酸转移

将 EP 管置于磁力架上静置 30s 至磁珠吸附完全，用移液枪将洗脱液转移至另一干净 EP 管中，操作过程完毕。

版权声明：© 英芮诚生化科技（上海）有限公司保留本使用指南所有权利。版本：V201811.291

英芮诚生化科技（上海）有限公司

地址：上海市杨浦区国权北路 1688 号湾谷科技园 A8 座 303 室

电话：021-55809378

网址：www.bio-enriching.com

电子邮件：marketing@bio-enriching.com