

YALEPIC® 磁珠法粪便/土壤 DNA 提取试剂盒

YALEPIC® MagEVO Stool And Soil DNA Extraction Kit

产品货号: YM26011

产品保存及运输条件:

常温运输; **RSL Buffer 2-8°C保存**, 其他组分 10 ~ 30°C室温保存。

产品概述

YALEPIC® 磁珠法粪便/土壤 DNA 提取试剂盒本试剂盒提供了一种简单、快速、高效的从土壤或者粪便中提取 DNA 的方法。独特的缓冲体系使裂解液中的核酸高效特异地结合在磁珠上, 获得的核酸纯度高, 质量稳定, 不含蛋白、核酸酶和其他杂质, 可适用于各种分子生物学应用, 包括 PCR、荧光定量 PCR、二代测序、三代测序等实验。

产品组分

序号	产品组分	YM26011 (96 T)
①	YQL Buffer	75 ml
②	RSL Buffer	22 ml
③	YBL Buffer	20 ml
④	Wash Buffer GA	76 ml
⑤	Wash Buffer GB	51 ml
⑥	Magbeads PM	2×1 ml
⑦	RNase A (100 mg/ml)	450 µl
⑧	SEB Buffer	23 ml
⑨	Lysis Tubes M	96 T

适用范围

- 1.适用于不同来源的固态或液态粪便;
- 2.适用于花坛土、花盆土、农田土、山林土、淤泥、红黑土、粉尘等多类土壤环境样本。

自备试剂及仪器

无水乙醇；异丙醇；涡旋混匀仪或组织研磨仪；2/15 ml 磁力架或核酸提取仪；96 深孔板及磁棒套；Nuclease-free 移液器吸头；Nuclease-free 1.5 ml/2.0 ml 离心管；高速离心机；恒温混匀仪；恒温水浴锅。

实验准备

1. 使用本试剂盒前做好防护措施，穿戴实验服、手套、口罩等。
2. 本试剂盒适用于粪便和土壤 DNA 提取纯化。样本采集后及时保存，应避免样本间交叉污染。
3. 本试剂盒只是用于提取样本中的核酸，样本类型不同、保存条件不同，具体的样本要求，请严格遵守核酸测试剂盒样本的有关要求规定。
4. 本试剂盒试剂含有胍盐成分，其具有腐蚀性和刺激性，如体表不慎接触到该试剂，立即用大量清水冲洗；若情况严重需就医。
5. 首次使用前向 **Wash Buffer GA** 和 **Wash Buffer GB** 中加入标签指定量的无水乙醇。
6. **Magbeads PM** 请勿冻存及高速离心，使用前只需涡旋振荡数秒混匀。
7. **RSL Buffer** 使用后需放于 2-8°C 冰箱保存。

实验流程

● 样本处理：

- 1) 瞬时离心 **Lysis Tube M**，收集裂解珠在管底。
- 2) **固体样本**：在 2 ml **Lysis Tube M** 中，加入 0.1 ~ 0.3g 土壤或粪便样本，加入 650 μ l **YQL Buffer**（如果需要去除 RNA，加入 4 μ l **RNase A** 溶液）盖好盖，旋紧管盖后短暂涡旋振荡，充分混匀。
- 3) **非裂解型粪便保存液保存的固液混合样本**：向 **Lysis Tube M** 中加入 200 μ l ~ 600 μ l 固液混合物，13,000 rpm 离心 1 min，弃掉保存液（若离心后固体量过少，可再次富集，但总量 $\leq$ 0.3 g）。加入 620 μ l **YQL Buffer** 和 4 μ l **RNase A**，旋紧管盖后短暂涡旋振荡，充分混匀。
- 4) 将 **Lysis Tube M** 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（推荐在搭配有 1.5 ~ 2ml 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，其他研磨方式可参考文末样本研磨方案）
- 5) 将 **Lysis Tube M** 在恒温混匀仪上以 70°C，1,200 rpm 振荡 10 min。随后 13,000 rpm 离心 2 min 以沉淀固体颗粒，转移 540 μ l 上清液至新的 2 ml 离心管。
- 6) 向样本处理后的上清液中加入 180 μ l **RSL Buffer**（使用前后请至于 2 ~ 8°C 保存），涡旋振荡 5 s，13,000 rpm 离心 2 min。

● 手动操作 (配磁力架)

- 依次向 2.0 ml 离心管中加入 160 μ l **YBL Buffer**、480 μ l 样本上清液、350 μ l 异丙醇、20 μ l **Magbeads PM**，涡旋振荡混匀后，将离心管置于恒温混匀仪上 65°C、1,600 rpm 振荡裂解 15 min。
(注: **Magbeads PM** 加入前需涡旋振荡 20 s 使其充分混匀，可与异丙醇提前混匀后加入)
- 将离心管放于磁力架上静置 1 min，待磁珠完全吸附于离心管侧壁后彻底弃去溶液，过程中保持离心管固定于磁力架上。
- 取下离心管，向管中加入 750 μ l **Wash Buffer GA**，旋涡振荡 5 s 后，置于 25°C、1,600 rpm 的恒温混匀仪上振荡 2 min。之后将离心管放于磁力架上静置 2 min，待磁珠完全吸附后，缓慢颠倒磁力架将离心管盖上的物质洗落，彻底弃去溶液，过程中保持离心管固定于磁力架上。重复该步骤一次。
- 取下离心管，向管中加入 750 μ l **Wash Buffer GB**，旋涡振荡 5 s 后，置于 25°C、1,600 rpm 的恒温混匀仪上振荡 2 min。之后将离心管放于磁力架上静置 2 min，待磁珠完全吸附后，缓慢颠倒磁力架将离心管盖上的物质洗落，彻底弃去溶液，过程中保持离心管固定于磁力架上。重复该步骤一次。
- 保持离心管固定于磁力架上静置 5~10 min，使乙醇充分挥发。
(注: 乙醇残留会影响后续的酶促反应，应将残余的乙醇彻底去除)
- 向离心管从磁力架上取下，向离心管中加入 50~200 μ l **SEB Buffer**，涡旋振荡混匀后将离心管放于 56°C、1,600 rpm 的恒温混匀仪上振荡 5~10 min。(或将离心管放于 56°C 水浴锅中孵育 10 min，期间每隔 3 min 涡旋振荡 10 s)
- 将离心管放置于磁力架上静置 3 min，待 Magbeads 完全吸附后，用移液器将洗脱液转移至新的 1.5 ml Nuclease-free 离心管中，-20°C 保存。

● 全自动核酸纯化仪

- 根据选用仪器型号进行试剂分装及程序设定，以下流程以 32 通道全自动核酸提取仪为例进行步骤说明

- 1) 样本处理好后，按下表向 96 深孔板中加入试剂：

列 数	试 剂	体 积
第 1、7 列	YBL Buffer	160 μ l
	样本上清液	480 μ l
	异丙醇	320 μ l
第 2、8 列	Wash Buffer GA	750 μ l
第 3、9 列	Wash Buffer GA	750 μ l
第 4、10 列	Wash Buffer GB	750 μ l
	Magbeads PM	20 μ l

第 5、11 列	Wash Buffer GB	750 μ l
第 6、12 列	SEB Buffer	100 μ l

- 2) 将加入试剂的深孔板和磁套放于相应位置，设置运行提取程序。
- 3) 程序运行结束后，取出 96 孔板，将第 6、12 列中的洗脱液转移至新的离心管中，-20℃ 保存。

2. 根据选用仪器型号进行试剂分装及程序设定，以下流程以 96 通道全自动核酸提取仪为例进行步骤说明

- 1) 样本处理好后，按下表向 96 深孔板中加入试剂：

板名称	类型	试剂及用量
Sample plate	96 深孔板	YBL Buffer : 160 μ l
		样本上清液: 480 μ l
		异丙醇: 320 μ l
Wash plate I	96 深孔板	Wash Buffer GA: 750 μ l
Wash plate II	96 深孔板	Wash Buffer GA: 750 μ l
Wash plate III	96 深孔板	Wash Buffer GB: 750 μ l
Wash plate IV	96 深孔板	Wash Buffer GB: 750 μ l
		Magbeads PM: 20 μ l
Elution plate	96 深孔板	SEB Buffer: 100 μ l

- 2) 将加入试剂的深孔板和磁套放于相应位置，设置运行提取程序。
- 3) 程序运行结束，取出 96 孔板，将第 6、12 列中的洗脱液转移至新的离心管中，-20℃ 保存。

研磨样本方案（可选）

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 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 （使 Lysis Tubes M 保持水平放置），若样本数量超过 12 个，延长 10 min。
3. 使用 Qiagen 的 TissueLyser II 时，以 25 Hz 研磨 8 ~ 10 min。
4. 使用 Qiagen 的 PowerLyzer 24 Homogenizer 时，以 2,000 rpm 的速度均质化 30 s，暂停 30 s，然后以 2,000 rpm 的速度再次均质化 30 s。
8. 使用 MP Biomedicals 的 FastPrep-24 时，推荐速度为 6.0，时间为 40 s。

本产品仅供研究使用，请勿用于临床诊断