

M4015 Mag-Bind[®] Stool DNA Kit

简易中文步骤

√实验前请按说明书正确稀释 SPM Buffer 和 VHB Buffer。

➤ 使用【无水乙醇】对 SPM Wash Buffer 进行稀释，稀释后室温保存

货号	加入量
M4015-00	7mL
M4015-01	70mL
M4015-02	140mL (每瓶)

➤ 使用【无水乙醇】对 VHB Buffer 进行稀释，稀释后室温保存

货号	加入量
M4015-00	3mL
M4015-01	28mL
M4015-02	112mL

提取步骤：

A. Stool DNA Protocol (for human DNA detection) 人粪便 DNA 提取方案

1. 称量不超过 200mg 的粪便样品至 2mL 离心管（客户自备）中，离心管置于冰上，加入 1.2mL Buffer SLX，最大速度涡旋混匀 1min 至完全匀浆；

Note: 如果样品是溶液，则将 200μl 溶液加入到离心管中；如果样品没解冻，需在解冻之前把样品刮入到离心管中，在样品解冻之前加入 Buffer SLX ；

2. 加入 400μl SP2 Buffer，涡旋混匀 10s，冰上孵育 5min；

3. 室温下，最大速度 ($\geq 14,000xg$) 离心 3min；

4. 将 1mL 上清液转移到 2mL 新的离心管中，加入 200μl HTR Reagent，涡旋混匀 10s；

Important: HTR Reagent 在加入之前需彻底重悬，可将 1mL 移液枪头尖端剪断，会更容易移液转移 HTR Reagent。

5. 室温下孵育 2min；

6. 最大速度 ($\geq 13,000xg$) 离心 2min，使 HTR Reagent 能够吸附抑制剂；

7. 转移 600μl 上清液至新的 2mL 离心管中，加入 20μl OB Protease (20mg/mL)，涡旋混匀；

8. 加入 300μl Binding Buffer 和 20μl MagSi Particles，涡旋混匀 30s；

9. 将离心管/板转移到磁力分离架上吸附磁珠，待磁珠完全被吸附后，用移液枪将上清液吸除；

10. 将离心管/板从磁力分离架上取下，加入 700μl Buffer VHB（已加无水乙醇稀释）至每个样品；

11. 涡旋或吹打重悬磁珠，室温下孵育 3min，孵育期间涡旋或吹打重悬几次；
12. 将离心管/板转移到磁力分离架上吸附磁珠，待磁珠完全被吸附后，用移液枪将上清液吸除；
13. 将离心管/板从磁力分离架上取下，加入 700 μ l SPM Wash Buffer（已加无水乙醇稀释）至每个样品；
14. 涡旋或吹打重悬磁珠，室温下孵育 3min，孵育期间涡旋或吹打重悬几次；
Note: 将磁珠涡旋重悬洗涤至关重要。
15. 将离心管/板转移到磁力分离架上吸附磁珠，待磁珠完全被吸附后，用移液枪将上清液吸除；
16. 将离心管/板从磁力分离架上取下，加入 700 μ l SPM Wash Buffer（已加无水乙醇稀释）至每个样品；
17. 涡旋或上下颠倒混匀将磁珠重悬；
18. 将离心管/板转移到磁力分离架上吸附磁珠，待磁珠完全被吸附后，用移液枪将上清液吸除；
19. 将离心管/板保持在磁力分离架上，空气干燥 5-10min，可使用移液枪将管内的残留液体吸除；
Note: 可简单离心，再用移液枪将残留的液体吸除。
20. 将离心管/板从磁力分离架上取下，加入 50-100 μ l Elution Buffer 或 water；
21. 将离心管/板上下颠倒混匀 50 次或涡旋混匀 3min，室温下孵育 5-10min；
22. 将离心管/板转移到磁力分离架上吸附磁珠，待磁珠完全被吸附后，将含有 DNA 的上清液转移到新的 1.5mL 离心管中。
Note: 在 70 $^{\circ}$ C 下（而不是在室温）孵育可增加 DNA 洗脱的产量。不同的样品类型产量会有较大的差异，一般 20mg 样品的预期产量在 8-35 μ g 之间。

B. Stool DNA Protocol (for pathogen detection) 病原体 DNA 提取方案

1. 称量 50-100mg 的粪便样品至含有 200mg 玻璃珠的 2mL 离心管 (未提供) 中, 将离心管置于冰上;

Note: 如果样品是溶液, 则将 200 μ l 溶液加入到离心管中; 如果样品没解冻, 需在解冻之前把样品刮入到离心管中, 在样品解冻之前加入 Buffer SLX/OB Protease;

2. 加入 600 μ l Buffer SLX 和 20 μ l OB Protease, 最大速度涡旋混匀 3min 至完全匀浆;

3. 在 70 $^{\circ}$ C 孵育 10min (冻存样品孵育 13min), 孵育期间取出样品涡旋混匀 2 次。选做: 如果是革兰氏阳性菌, 需要进行二次孵育: 在 95 $^{\circ}$ C 孵育 5min;

4. 加入 200 μ l Buffer SP2, 涡旋混匀 30s, 冰上孵育 5min;

5. 最大速度 (13,000-20,000xg) 离心 5min;

6. 小心转移上清液至新的 1.5mL 离心管中, 注意不要转移到任何沉淀物;

7. 加入 200 μ l HTR Reagent, 涡旋混匀 10s, 室温孵育 2min;

Important: HTR Reagent 在加入之前需彻底重悬, 可将 1mL 移液枪头尖端剪断, 会更容易移液转移 HTR Reagent。

8. 最大速度 (> 13,000xg) 离心 2min, 使 HTR Reagent 能够吸附抑制剂;

9. 转移 600 μ l 上清液至新的 2mL 离心管, 加入 300 μ l Binding Buffer 和 20 μ l MagSi Particles, 涡旋混匀 30s;

10. 将离心管/板转移到磁力分离架上吸附磁珠, 待磁珠完全被吸附后, 用移液枪将上清液吸除;

11. 将离心管/板从磁力分离架上取下, 加入 700 μ l Buffer VHB (已加无水乙醇稀释) 至每个样品;

12. 涡旋或吹打重悬磁珠, 室温下孵育 3min, 孵育期间涡旋或吹打重悬几次;

Note: 将磁珠涡旋重悬洗涤至关重要。

13. 将离心管/板转移到磁力分离架上吸附磁珠, 待磁珠完全被吸附后, 用移液枪将上清液吸除;

14. 将离心管/板从磁力分离架上取下, 加入 700 μ l SPM Wash Buffer (已加无水乙醇稀释) 至每个样品;

15. 涡旋或吹打重悬磁珠, 室温下孵育 3min, 孵育期间涡旋或吹打重悬几次;

Note: 将磁珠涡旋重悬洗涤至关重要。

16. 将离心管/板转移到磁力分离架上吸附磁珠, 待磁珠完全被吸附后, 用移液枪将上清液吸除;

17. 将离心管/板从磁力分离架上取下, 加入 700 μ l SPM Wash Buffer (已加无水乙醇稀释) 至每个样品;

18. 涡旋或上下颠倒混匀将磁珠重悬;

19. 将离心管/板转移到磁力分离架上吸附磁珠，待磁珠完全被吸附后，用移液枪将上清液吸除；

20. 将离心管/板保持在磁力分离架上，空气干燥 5-10min，可使用移液枪将管内的残留液体吸除；

Note: 可简单离心，再用移液枪将残留的液体吸除。

21. 将离心管/板从磁力分离架上取下，加入 50-100 μ l Elution Buffer 或 water；

22. 将离心管/板上下颠倒混匀 50 次或涡旋混匀 3min，室温下孵育 5-10min；

23. 将离心管/板转移到磁力分离架上吸附磁珠，待磁珠完全被吸附后，将含有 DNA 的上清液转移到新的 1.5mL 离心管中。

Note: 在 70°C 下（而不是在室温）孵育可增加 DNA 洗脱的产量。。不同的样品类型产量会有较大的差异，一般 20mg 样品的预期产量在 8-35 μ g 之间。

中文翻译仅供辅助阅读，详情请以英文说明书为准