

# MagicPure<sup>®</sup> 32 Microbiome DNA Isolation Kit

使用前请仔细阅读说明书

目录号: EC107-32

版本号: Version 1.0

## 产品说明

MagicPure<sup>®</sup> 32 Microbiome DNA Isolation Kit是一款适用于从血液、肺泡灌洗液、液化痰液、鼻咽或口咽拭子、胸腹水、脑脊液、羊水等生物样品中高效分离纯化宿主和微生物基因组DNA的产品。本试剂盒利用硅基磁珠特异性吸附富集微生物DNA，获得的DNA适用于多种下游应用，包括PCR、qPCR、宏基因组或16S rDNA文库构建等实验。本试剂盒适用于32通道磁棒式自动化核酸提取仪，并可与TransNGS<sup>®</sup> Host DNA Depletion Kit (EH301) 搭配使用，达到清除宿主核酸的效果。

## 特点

- 高通量提取，操作简便，速度快。
- 高质量、更高得率满足多种下游多种检测需求。
- 更低的试剂背景降低假阳性风险。

## 试剂盒组成

组分	EC107-32-11 (32 rxns)
Microbiome DNA Reagents	2块
Lysis Buffer 45 (LB45)	7 ml
Proteinase K (20 mg/ml)	1.5 ml
Lysis Tube	32个
8-Tip Comb	4个

Microbiome DNA Reagents 组成:

列数	名称	装量
列 1/7	Binding Buffer 45 for Plate ( BB45 for Plate )	500 $\mu$ l/孔 $\times$ 16
列 2/8	Magnetic Microbiome Beads for Plate	300 $\mu$ l/孔 $\times$ 16
列 3/9	Clean Buffer 45 for Plate ( CB45 for Plate )	700 $\mu$ l/孔 $\times$ 16
列 4/10	Wash Buffer 45 for Plate ( WB45 for Plate )	700 $\mu$ l/孔 $\times$ 16
列 5/11	Wash Buffer 45 for Plate ( WB45 for Plate )	700 $\mu$ l/孔 $\times$ 16
列 6/12	Elution Buffer	100 $\mu$ l/孔 $\times$ 16

## 储存条件

该试剂盒置于15-25°C，可保存12个月，避免冻存。

## 自备试剂和仪器

无菌1 $\times$ PBS ( pH7.4 ) 溶液

带滤芯的Nuclease-free移液吸头

涡旋振荡仪 ( 如KylindBell<sup>®</sup> Vortex-10等 )

高速离心机 ( 转速 $\geq$ 10000 rpm )

恒温水浴锅

## 样品要求

- 使用前请确保样品新鲜，避免反复冻融。
- 请确保样品使用无菌介质采集和储存，并于清洁区域内打开操作，避免样品处理过程引入污染。

样品类型	推荐用量
血液样品 ( 抗凝全血 )	$\leq$ 200 $\mu$ l
生物液体样品 ( 肺泡灌洗液、脑脊液、胸腹水、血清、血浆、液化痰液等 )	宿主细胞 $\leq$ 1 $\times$ 10 <sup>7</sup>
拭子类 ( 鼻、咽、口拭子 )	宿主细胞 $\leq$ 1 $\times$ 10 <sup>7</sup>
菌液样品	菌体数 $\leq$ 1 $\times$ 10 <sup>9</sup>

## 微生物和宿主总DNA自动化提取流程

本试剂盒开始使用前请做好以下准备



- 如果Lysis Buffer 45 (LB 45) 出现沉淀, 请在56°C条件下溶解后使用。
- 从试剂盒中取出预封装 96 孔深孔板 (Microbiome DNA Reagents), 去掉深孔板的外包装, 将 96 孔深孔板颠倒混匀数次使磁珠重悬, 轻甩深孔板使试剂及磁珠均集中到深孔板底部 (也可使用深孔板离心机, 500 rpm 离心不超过 1 min)。

## 微生物DNA提取

### 1. 样品处理

(1) 取200  $\mu$ l样品加入Lysis Tube中, 依次加入200  $\mu$ l LB45和40  $\mu$ l Proteinase K, 置于涡旋仪上, 以最大转速涡旋10 min。

\*血液样品不足200  $\mu$ l时, 添加PBS补至200  $\mu$ l;

\*生物液体、拭子和微生物培养液等样品, 若样品量 $\leq$ 200  $\mu$ l, 按照血液样品处理; 若200  $\mu$ l < 样品量 $\leq$ 1 ml, 则需在12000 rpm转速下离心5 min, 移除上清, 剩余200  $\mu$ l进行提取。

\*若搭配TransNGS® Host DNA Depletion Kit (EH301)进行去宿主处理, 则将处理后的液体直接转移至Lysis Tube, 按照本说明书操作即可。

(2) 将Lysis Tube置于70°C, 水浴5分钟, 12000 rpm离心1 min消除泡沫。

\*若1 min离心后仍有泡沫, 可增加离心时间以消除。

2. 转移所有上清液至96深孔板1/7列各孔中。

\*转移上清时, 勿将玻璃珠吸出。

3. 将磁棒套插入32通道自动化核酸提取仪磁棒套卡槽内。

4. 运行32通道自动化核酸提取仪微生物DNA自动化提取程序。

\*设置洗脱温度65°C, 然后按下表设置程序:

步骤	工位	名称	等待时间	混合时间	混合速度	磁吸时间	温度
1	2/8	移磁珠	—	10 sec	快	30 sec	—
2	1/7	结合	—	5 min	快	30 sec	—
3	3/9	漂洗1	—	1 min	快	30 sec	—
4	4/10	漂洗2	—	1 min	快	30 sec	—
5	5/11	漂洗3	—	1 min	快	30 sec	—
6	5/11	干燥	3min	—	—	—	—
7	6/12	洗脱	—	5 min	快	30 sec	65°C
8	2/8	弃磁珠	—	5 sec	快	—	—

5. 程序结束后, 将列6/12各孔中的DNA吸出, 置于-20°C或-70°C保存。

常见问题	原因	解决方案
微生物DNA损失	微生物细胞损失	最好使用新鲜样品, 尽可能避免冻融
	去上清操作导致的微生物损失	生物液体、拭子和微生物培养液等样品富集去上清时, 切勿触碰底部沉淀
	微生物细胞破壁不充分	严格按照说明书操作, 或适当延长机械破壁时间
	磁珠残留	若样品含脂类物质较多, 较为粘稠, 可适当延长裂解时间让核酸以外的杂质彻底分解
提取过程溶液出现沉淀	LB在低温或长时间存放后可能会出现沉淀	发现LB中出现沉淀, 须在56°C下孵育至沉淀全部溶解, 才可使用
提取效率低	破壁不充分或富集样本细胞数过大	适当延长破壁时间, 减少样本投入量

本产品仅供研究, 不用于临床诊断。

版本号: V1.0-202209

服务电话 +86-10-57815020

服务邮箱 complaints@transgen.com

