



MGIEasy 粪便基因组 DNA (meta) 提取试剂盒

说明书

说明书版本: 3.0

型号: SD02T-96, SD02T-384

【产品名称】

中文名称: MGIEasy 粪便基因组 DNA (meta) 提取试剂盒

英文名称: MGIEasy Stool Microbiome DNA Extraction Kit

【包装规格】

货号	型号	规格
940-000122-00	SD02T-96	96 人份/盒
940-000123-00	SD02T-384	384 人份/盒

【预期用途】

用于人类粪便样本微生物基因组 DNA 的提取、富集和纯化。

【检验原理】

MGIEasy 粪便基因组 DNA (meta) 提取试剂盒可以从新鲜或者冷冻的人类粪便样本中提取或者纯化微生物基因组 DNA, 主要应用于宏基因组测序等应用。本产品采用超顺磁的纳米磁珠捕获技术和独特的缓冲技术, 有效去除样本中的杂质, 获得高质量、高纯度的微生物基因组 DNA。最后得到的微生物基因组 DNA 可用于各种常规操作, 包括酶切、PCR、荧光定量 PCR、文库构建、高通量测序等实验。

【主要组成成分】

表 1 试剂盒主要成分及规格

试剂组分名称	规格与数量 (96 人份/盒)	规格与数量 (384 人份/盒)
提取缓冲液 (PCB)	70 mL/瓶×1 瓶	280 mL/瓶×1 瓶
裂解液 (PLB-M)	50 mL/瓶×1 瓶	200 mL/瓶×1 瓶
结合液 (PFB-M)	12.5 mL/瓶×1 瓶	50 mL/瓶×1 瓶
洗涤液 1 (PW1-M)	20 mL/瓶×1 瓶	80 mL/瓶×1 瓶
洗涤液 2 (PW2)	24 mL/瓶×1 瓶	96 mL/瓶×1 瓶
洗脱液 (PB)	15 mL/瓶×1 瓶	60 mL/瓶×1 瓶
磁珠 (Magnetic Beads-T)	2 mL/管×1 管	8 mL/管×1 管
蛋白酶 K (Proteinase K)	1 mL/管×1 管	4 mL/管×1 管

【储存条件及有效期】

试剂盒可以在 2°C~30°C 运输和储存。

注意：

1. 试剂盒中所有组分可 2°C~30°C 运输和储存。
2. 蛋白酶 K 析出，则蛋白酶 K 需更换；其他试剂若有少量晶体析出，为正常现象，不影响产品性能。

【适用自动化仪器】

本试剂盒适用仪器：

高通量自动化样本制备系统，仪器型号：MGISP-960 配置 1/2/6/7/8/9/10 机型；

全自动核酸提取纯化仪，仪器型号：MGISP-NE384；

【样本要求】

1. 本试剂盒适用样本类型：

新鲜的粪便样本，确保在 2h 内采集，并放入粪便保存液中，可以常温保存 7 天或 -80°C 保存 1 年；新鲜粪便样本，于 2h 内采集并放于采样杯中，-80°C 冰箱或干冰中可保存 1 年。如超过 2h 未对粪便样本进行处理，会导致粪便中微生物死亡，微生物体内的核酸酶大量释放，从而导致提取的 DNA 产物出现降解而损失，无法确保 DNA 产物的完整性。

2. 新鲜采集的样本，如果现取现用，可以将样本置于 4°C 临时保存并于当天完成提取实验；无法现取现用的样本则参考 1 中的条件进行保存。为避免冷冻保存的样本反复冻融，样本第一次解冻时需按照冷冻粪便的重量加入 4 倍体积重量比的粪便保存液（如 2 g 冷冻粪便，加入粪便保存液体积则为 8 mL，待混合均匀，样本彻底变色后，用阔口吸头吸取样本悬液 3-5 mL 分装至 5 mL 离心管中），于 -80°C 冷冻保存，取用时每次仅需取用单管。
3. 样本运输：放入粪便保存液的样本可常温运输，运输时间应不超过 7 天；放入采样杯的样本需干冰运输，运输时间应不超过 7 天，运输期间避免反复冻融。
4. 样本安全性：所有样本均视为有潜在感染性的物品，含有致病菌如病毒的临床样本建议灭活处理后，再进行核酸提取操作，操作时按照国家相关标准执行。

【检验方法】

请按照如下要求操作：

A. 客户自备物料清单

a) 手工操作需自备物料

表 2 手工操作自备物料清单

类型	名称	备注
仪器	2.0 mL 小型离心机	最大转速不低于 12000 rpm
	漩涡混匀仪	最大转速不低于 2500 rpm
	恒温混匀仪	无
	1.5 mL 规格的磁力架	无
	移液器	1 mL、200 μ L、20 μ L
试剂	无水乙醇	分析纯
	异丙醇	分析纯
	MGI 粪便样本采集套装	货号: 1000003702
	研磨珠	MGIEasy 组织研磨珠, 货号: 940-000136-00
耗材	2.0 mL 离心管	无 DNase, 无 RNase
	1.5 mL 离心管	无 DNase, 无 RNase
	吸头	1 mL、200 μ L、20 μ L

b) 自动化操作需自备物料

表 3 MGISP-960 自动化操作自备物料清单

类型	名称	品牌	货号
仪器	2.0 mL 小型离心机 (最大转速不低于 12000 rpm)	无	无
	漩涡混匀仪(最大转速不低于 2500rpm)	无	无
	恒温混匀仪	无	无
	移液器	无	无
试剂	无水乙醇 (分析纯)	无	无
	异丙醇 (分析纯)	无	无
	MGI 粪便样本采集套装	MGI	1000003702
	研磨珠——MGIEasy 组织研磨珠	MGI	940-000136-00
耗材	吸头 (1 mL, 200 μ L, 20 μ L)	无	无
	1.5 mL, 2.0 mL 离心管 (无 DNase, 无 RNase)	无	无
	250 μ L 带滤芯自动化吸头	MGI	1000000723
	1.3 mL 96 孔圆形孔 U 型底深孔板	MGI	1000004644
	适配器 (适用于半裙边 96 孔 PCR 板)	MGI	010-901739-00

表 4 MGISP-NE384 自动化操作自备物料清单

类型	名称	品牌	货号
仪器	漩涡混匀仪 (最大转速不低于 2500rpm)	无	无
	2.0 mL 小型离心机 (最大转速不低于 12000 rpm)	无	无
	恒温混匀仪	无	无
	移液器	无	无
试剂	无水乙醇 (分析纯)	无	无
	异丙醇 (分析纯)	无	无
	MGI 粪便样本采集套装	MGI	1000003702
	研磨珠——MGIEasy 组织研磨珠	MGI	940-000136-00
耗材	吸头 (1 mL, 200 μ L, 20 μ L)	无	无
	1.5 mL, 2.0 mL 离心管 (无 DNase, 无 RNase)	无	无
	96 孔磁棒套	MGI	1000025661
	2.2 mL 96 孔方形孔 V 型底深孔板	MGI	1000008088

B. 用前阅读

1. 冻存样本避免反复冻融，否则会导致样本中 DNA 的质量下降。
2. 试剂套装各组分使用前取出并平衡到室温 (10°C~30°C)，分装前应充分混匀。非必要说明，操作温度为室温。
3. 使用前确保提取缓冲液 (PCB)，洗涤液 1 (PW1-M) 和洗涤液 2 (PW2) 已按照试剂瓶标签的提示量添加无水乙醇。结合液 (PFB-M) 已按照标签提示量添加异丙醇。
4. 请使用自动化或手工操作推荐的耗材。
5. 实验前请仔细阅读相应试剂盒的操作说明书。
6. 洗脱缓冲液 PB 的组分为 10 mM Tris-HCl (pH8.0)，若洗脱缓冲液不足可自备洗脱缓冲液。

C. 样本预处理

1. **固态/半固态样本：**室温条件下称取 180 ~ 220 mg 粪便样本至 2.0 mL 离心管中，加入 1mL 粪便保存液/1xPBS，将漩涡混匀仪调节到最大 (不低于 2500rpm)，震荡混匀 3-5 分钟，至保存液粪便样本溶液充分变色，样本均匀悬浮。用移液器取出 200 μ L~500 μ L 上层悬液转移到一个新的 2.0 mL 离心管作为待提取样本备用 (为防止杂质堵住枪头，可将枪头尖适当剪去)。
粪便保存液保存型样本：将保存有粪便样本的保存液试剂管震荡均匀，直至样本混合液充分变色，样本均匀悬浮。吸取 200 μ L~500 μ L 上层悬液转移到一个新的 2.0mL 离心管作为待提取

样本备用（为防止杂质堵住枪头，可将枪头尖适当剪去）。

2. 向含有样本悬液的 2.0 mL 离心管加入 1000 μ L 提取缓冲液 PCB（已按照标签指示加入无水乙醇）。将涡旋混匀仪调节到最大（不低于 2500rpm），震荡混匀 15 s。
3. 12000rpm 离心 2 分钟，用移液器缓慢吸弃上清（避免吸到管底固体沉淀）。
4. 用 1.5 mL 离心管量取研磨珠至 100 μ L 刻度线，或量取 0.15 g 研磨珠加入上一步离心管中，继续加入 10 μ L 蛋白酶 K（Proteinase K），500 μ L 裂解液（PLB-M），将涡旋混匀仪调节到最大（不低于 2500rpm），震荡混匀 60 s（如需要更多革兰氏阳性菌，推荐使用研磨仪，品牌：Mobio/QIAGEN；推荐参数：30Hz/1800rpm 研磨 5 分钟）。研磨混匀结束，将离心管放置于恒温混匀仪上，温度控制在 70 $^{\circ}$ C，转速控制在 1000rpm，孵育 20 分钟。
5. 孵育结束后，取出离心管，12000 rpm 离心 2 分钟，取出 400 μ L 上清液转移到新的 1.5 mL 离心管，标记备用。

D. 手动核酸提取操作步骤

1. 取**预处理**后的样本，向离心管中加入 500 μ L 结合液 PFB-M（已按照标签指示量加入异丙醇），20 μ L Magnetic Beads-T，充分振荡混匀，室温静置 2 分钟，静置期间涡旋混匀仪震荡混匀 1-2 次，每次 3s。

注意：Magnetic Beads-T 需室温下预先放置 30 分钟，使用前彻底涡旋振荡混匀。

2. 将离心管放置在磁力架上静置 2 分钟，磁珠完全吸附后，小心吸弃上清液体。
3. 将离心管从磁力架上取下，加入 500 μ L PW1-M（确保已按标签信息加入无水乙醇），充分振荡混匀 1 分钟。

注意：加入 PW1-M 后振荡混匀一定要充分，否则会影响提取的核酸纯度。

4. 将离心管放置磁力架上静置 1 min，磁珠完全吸附后，小心吸弃上清液体。
5. 将离心管从磁力架上取下，加入 600 μ L PW2（确保已按标签信息加入无水乙醇），充分振荡混匀 1 分钟。
6. 将离心管放置磁力架上静置 1 min，磁珠完全吸附后，小心吸弃上清液体。
7. 重复步骤 5~6，尽可能吸弃离心管中残留的液体。
8. 将离心管放置磁力架上，开盖室温干燥 5 min，确保液体挥发干净。
9. 将离心管从磁力架上取下，加入 100~150 μ L 洗脱液 PB，振荡混匀后置于恒温混匀仪上，温度控制在 56 $^{\circ}$ C，转速控制在 1000 rpm 孵育 5 min。
10. 孵育结束，将离心管放置磁力架上，待磁珠完全吸附后，小心将上清产物转移至新的 1.5 mL 离

心管中，做好标记并于-20 °C 以下保存。

E. MGISP-960 自动化核酸提取操作步骤

E1. MGISP-960 自动化提取前准备

1. 机器准备

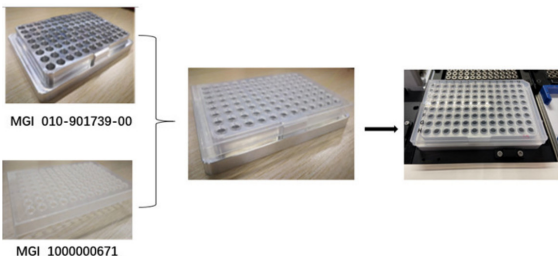
- 1) 第一次运行该应用前，请确认应用脚本已按照《MGISP-100 和 MGISP-960 应用脚本安装说明书》指引导入本地 MGISP-960 中。
- 2) 实验开始前，请确保 MGISP-960 已根据《MGISP-100 和 MGISP-960 设备清洁说明书》完成【前期清洁】。

2. 耗材准备

根据表 5 列出的 MGISP-960 自动化核酸提取客户自备物料清单，取出运行一次核酸提取流程需要的自动化耗材备用。

表 5 MGISP-960 自动化核酸提取客户自备物料清单

名称	品牌	货号	数量
250 μ L 带滤芯自动化吸头	MGI	100000723	6 盒
1.3 mL 96 孔圆形孔 U 型底深孔板	MGI	1000004644	5 块
半裙边 96 孔 PCR 板	MGI	1000000671	1 块
适配器 (适用于半裙边 96 孔 PCR 板)	MGI	010-901739-00	1 块



注意：适配器+半裙边 96 孔 PCR 板使用方法如上图所示（适配器可重复使用），可直接替换硬框

薄壁全裙边 96 孔 PCR 板 (MGI, 1000012059) 使用。

注意: MGISP-960 配置 1/2/6/7/8/10 需采购适配器 (MGI, 010-901739-00)。配置 9 不需采购适配器。

3. 样品准备

- 1) MGISP-960 可以单次对 1-96 个样本进行提取。
- 2) 参照“C.样本预处理”完成粪便样本的预处理。
- 3) 取出 1 块深孔板 (MGI, 1000004644) 标记为【结合液+磁珠+样品】, 吸取离心后的样本 240 μL /孔加到深孔板中。确认深孔板底部无气泡, 侧壁无挂液, 将装有样本的深孔板样本置于冰上备用。

4. 试剂准备

- 1) 配置 (结合液 PFB-M + Magnetic Beads-T 磁珠) 复合液: 按每个反应 300 μL PFB-M 和 20 μL 磁珠配制足够的 (结合液+磁珠) 复合液, 充分混匀。

注意: Magnetic Beads-T 在添加前, 需使用涡旋振荡仪充分混匀。结合液 PFB-M 已按照标签提示量添加异丙醇。

- 2) 取出 3 块 96 孔深孔板 (MGI, 1000004644), 分别标记为【洗涤液 1】、【洗涤液 2】、【洗脱液】, 并按照表 6 加入相应试剂。

注意: 使用前确保洗涤液 1 (PW1-M) 和洗涤液 2 (PW2) 已按照试剂瓶标签的提示量添加无水乙醇。

表 6 试剂板试剂用量表

试剂板	试剂	试剂量
结合液+磁珠+样品	(结合液+磁珠) 复合液 + 样品	320 μL (结合液+磁珠) 复合液+240 μL 样品/孔
洗涤液 1	洗涤液 1 (PW1-M)	400 μL /孔
洗涤液 2	洗涤液 2 (PW2)	800 μL /孔
洗脱液	洗脱液 (PB)	120 μL /孔

E2. MGISP-960 自动化提取

1. 提取操作

- 1) 双击打开桌面【MGISP-960】, 将出现模式选择界面, 如图 1, 选择【Real】模式后, 点击【创建】。



图 1 选择模式界面

- 2) 点击【创建】后，进入身份认证界面，如图 2，点击【操作员进入】。



图 2 身份认证界面

- 3) 点击【操作员进入】后，进入初始化界面，如图 3

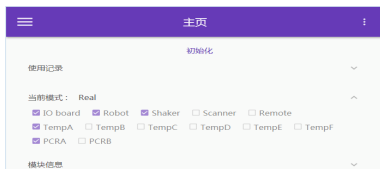


图 3 初始化界面

- 4) 点击【初始化】，初始化时间约为 2 分钟，当页面显示【初始化成功】，如图 4，则表明设备正常连接，可进入以下操作。

表 7 核酸提取台面样品、试剂和耗材台面位置

名称	位置
250 μ L 带滤芯自动化吸头	Pos1-Pos6
废液板	Pos15
半裙边 96 孔 PCR 板+适配器 (适用于半裙边 96 孔 PCR 板)	Pos16
洗涤液 1	Pos17
洗涤液 2	Pos18
结合液+磁珠+样品	Pos20
洗脱液	Pos22

- 6) 点击【运行】按钮后，提取开始。
- 7) 整个流程预计运行 1 h 左右，用户可根据需要进行【暂停】和【恢复】。流程运行结束后，取出 Pos16 位置的核酸产物。
- 8) 根据后续检测进行下一步操作。
- 9) 处理废弃的深孔板、PCR 板、废料袋，将其投放至指定废品区域。如果当天不再进行实验，按照《MGISP-100 和 MGISP-960 设备清洁说明书》要求清洁台面。

F. MGISP-NE384 自动化核酸提取操作步骤

F1. MGISP- NE384 自动化提取前准备

1. 机器准备

- 1) 第一次运行该应用前，请确认应用脚本已导入本地 MGISP-NE384 中。导入路径为 C:/MGISP-NE384/Scripts/ MGI Easy Microbiome DNA Extraction for Stool.mgi。
- 2) 每轮实验开始前，请确保 MGISP-NE384 已完成【清洁】。

2. 耗材准备

- 1) 根据下表准备一次运行384个样本需要的耗材量，备用：

表 8 自动化耗材表

耗材名称	品牌	货号	数量
96 孔磁棒套	MGI	1000025661	4 块
2.2 mL 96 孔方形孔 V 型底深孔板	MGI	1000008088	24 块

3. 样本准备

- 1) 全自动核酸提取仪可以对 1-384 个样本进行提取。
- 2) 参照“**C.样本预处理**”完成粪便样本的预处理。
- 3) 取出 1 块深孔板 (MGI, 1000008088) 作为样本板，标记为【样本上清+结合液】，吸取离心后的样本 400 μ L 到深孔板中。确认深孔板底部无气泡，侧壁无挂液，将装有样本的深孔板置于冰上备用。

4. 试剂准备

- 1) 根据客户的提取样本数量，分装相应的提取试剂。
- 2) 稀释磁珠：**Magnetic Beads-T** 磁珠用量按照 20 μ L 磁珠：280 μ L mili Q 水/无酶水的比例进行稀释，每个样品需要使用 300 μ L，请按照实际样品数准备足够的稀释磁珠。
- 3) MGISP-NE384 支持 1-4 Lane 的 96 人份试剂的提取实验，每条 Lane 除深孔板【样本上清+结合液】外，还需 5 块 2.2 mL 96 孔方形孔 V 型底深孔板 (MGI, 1000008088)，分别标记为【稀释磁珠】、【PW1-M】、【PW2-1】、【PW2-2】和【PB】。并按照表 9 加入相应试剂。

注意：使用前确保洗涤液 1 (PW1-M) 和洗涤液 2 (PW2) 已按照试剂瓶标签的提示量添加无水乙醇。使用前确保结合液 PFB-M 已按照试剂瓶标签的提示量添加异丙醇。

表 9 试剂板试剂装量

试剂板名称	试剂	用量/孔
样本上清+PFB-M	样本上清+结合液 PFB-M	400 μ L 样本上清+500 μ L 结合液 PFB-M
稀释磁珠	稀释磁珠	300 μ L
PW1-M	洗涤液 1 (PW1-M)	500 μ L
PW2-1	洗涤液 2 (PW2)	600 μ L
PW2-2	洗涤液 2 (PW2)	600 μ L
PB	洗脱液 (PB)	150 μ L

F2. MGISP-NE384 自动化提取

1. 仪器操作

- 按照 MGI 仪器售后工程师指定的路径导入 MGISP-NE384 的脚本。
- 双击打开桌面【MGISP-NE384】，将出现登录界面，选择【User】用户，输入密码【123456】，点击【登录】。
- 点击【登录】后，进入初始化界面。
- 点击【初始化】，当显示主页界面，则表明设备正常连接，可进入主页界面操作。

注意：如软件初始化失败，检查机器是否打开、是否重复打开软件，可尝试重新启动软件，如问题仍不能解决，请联系 MGI 售后工程师。

- 确认脚本已经导入自动化仪器。
- 选择【清洁】选项，清空操作台，使用浸有 75% 的消毒酒精的无尘纸擦拭操作台和托盘，擦拭干净后，关闭视窗。点击【开始】，仪器将打开风机过滤单元和紫外灯清洁仪器内部环境，清洁时间默认为 20 分钟，客户也可根据需要自行修改清洁时间。
- 清洁完成后，回到主页面，选择【流程运行】选项。
- 在【流程运行】界面，点击【脚本】下拉框，选择【MGI Microbiome DNA Extraction for Stool】提取程序，将各试剂板按照表 10 所示位置，放入 MGISP-NE384 全自动核酸提取纯化仪中，根据提取 Lane 数，装上相应数量 96 孔磁棒套。

注意：如果只使用 Lane A、Lane B、Lane C、Lane D 其中一条或多条 Lane，请将不同试剂板按表 10 要求放在同一条 Lane 的相应位置，并选择相应的 Lane 进行实验。

表 10 台面样品、试剂和耗材台面位置

试剂板名称	位置
样本上清+PFB-M	Lane A, Lane B, Lane C, Lane D: Pos 1
稀释磁珠	Lane A, Lane B, Lane C, Lane D: Pos 2
PW1-M	Lane A, Lane B, Lane C, Lane D: Pos 3
PW2-1	Lane A, Lane B, Lane C, Lane D: Pos 4
PW2-2	Lane A, Lane B, Lane C, Lane D: Pos 5
PB	Lane A, Lane B, Lane C, Lane D: Pos 6

- 9) 确认耗材和试剂放置无误后，关闭仪器视窗。点击【运行】按钮后，会出现弹窗，根据测试样本量勾选相应运行通道，确认磁棒套放置好后勾选“已放置磁棒套”，点击确定，流程开始运行。
- 10) 运行时间为 30 分钟左右，请妥善安排好后续检测工作。
- 11) 流程结束后，尽快取出 Pos 6 位置的深孔板，避免产物长时间放置于高温环境。提取产物可以直接用于后续实验，也可将产物转移至 PCR 板中，-20 °C 保存。
- 12) 处理废弃的深孔板和磁棒套，投放至指定废品区域。选择【清洁】选项，清空操作台，使用浸有 75% 的消毒酒精的无尘纸擦拭操作台和托盘，擦拭干净后，关闭视窗。点击【开始】，仪器将打开风机过滤单元和紫外灯清洁仪器内部环境，清洁时间默认为 20 分钟，客户也可根据需要自行修改清洁时间。

注意：实验结束，请立即取出提取产物。禁止产物长时间放置在 Pos 6 位置，否则会影响产物质量。

【注意事项】

1. 本产品仅用于科研用途，不用于临床诊断，使用前请仔细阅读本说明书；
2. 试验前请熟悉和掌握需使用的各种仪器的操作方法和注意事项；
3. 所有试剂从规定的存储环境中取出时，按照要求使用，使用前试剂应摇匀，混匀后使用；
4. 每次加样均应使用微量加样器；
5. 所有样本及试剂应避免直接接触皮肤和眼睛，切勿吞咽，一旦发生这种情况立即用大量清水冲洗并及时到医院就诊；
6. 所有样本和各种废弃物均应按相关法规规定的处理。



【基本信息】

企业名称：武汉华大智造科技有限公司

住所：武汉市东湖新技术开发区高新二路 388 号武汉光谷国际生物医药企业加速器 3.1 期 24 栋

生产地址：

武汉市东湖新技术开发区高新二路 388 号武汉光谷国际生物医药企业加速器 3.1 期 24 栋

武汉市东湖新技术开发区高新大道 818 号 B13 栋

客服电话：4000-966-988

技术支持：MGI-service@mgi-tech.com

网 址：www.mgi-tech.com