



MGIEasy 微生物 DNA 提取试剂盒说明书

试剂盒版本号: V1.0

说明书版本号: 2.0

【产品名称】

中文名称: MGIEasy 微生物 DNA 提取试剂盒

英文名称: MGIEasy Microbiome DNA Extraction Kit

【包装规格】

货号	型号	规格
1000027955	MD01T-96	96 Preps

【预期用途】

本试剂盒采用专一、高结合力超顺磁性的纳米磁珠, 针对于血清、血浆、脑脊液、肺泡灌洗液、痰液、单菌培养液等各种样本进行优化的独特缓冲溶液体系, 适用于革兰氏阴性菌、革兰氏阳性菌、酵母菌、DNA 病毒等 DNA 的提取, 可以快速简单的从各类样本中得到高质量的微生物 DNA。提取得到的 DNA 可以适用于各种常规操作, 包括酶切、PCR、荧光定量 PCR、文库构建、芯片杂交、高通量测序等实验。

【试剂盒组成信息】

表 1 试剂盒组分信息表

试剂名称	规格与数量 (96 Preps)
裂解液 (Buffer LB)	29.0mL×1 瓶
洗涤液 1 (Buffer BW1)	20.0mL×1 瓶
洗涤液 2 (Buffer BW2)	24.0 mL×1 瓶
洗脱液 (Buffer EB)	20.0 mL×1 瓶
蛋白酶 K (Proteinase K)	2.0 mL×1 管
磁珠 H (Magnetic Beads H)	2.0 mL×1 管
MRP (Buffer MRP)	2.0 mL×1 管

【运输条件】

常温条件 (2°C~30°C) 下运输。

【存储条件】

本试剂盒中不同试剂组分存储条件不同, 请按如下条件分别储存:

蛋白酶 K (Proteinase K): 2°C~8°C

磁珠 H (Magnetic Beads H): 2°C~8°C

其他试剂: 室温 (15°C~25°C) 干燥条件下保存。

【有效期】

见试剂盒标签

【用户自备主要材料】

表 2 用户自备主要材料表

类别	物料名称	备注
仪器设备	漩涡混匀仪	无
	小型离心机	转速不低于 10000 rpm/min
	恒温混匀仪	可采用水浴锅替代
	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
耗材	1.5 mL 离心管	无 DNase
	吸头	1 mL、200 μ L、10 μ L

【用前阅读】

- 待提取的冻存样品避免反复冻融，反复冻融易导致样品中 DNA 质量下降。
- 若裂解液 LB (Buffer LB) 、洗涤液 1 (Buffer BW1) 溶液有沉淀析出，使用前请将溶液放置于 37°C 水浴中预热 10 min，待沉淀溶解，摇匀后使用。沉淀析出为正常现象，不影响试剂性能。
- 所有的试剂和样本在使用前请平衡到室温 (15~25°C)。
- 磁珠 Buffer 更换：为防止背景菌污染，建议保存时间在半年以上或磁珠常温保存超过一个月的试剂盒进行本操作，将 Magnetic Beads H 置于磁力架上，待磁珠完全吸附到管壁上，采用无菌吸头将离心管中 Buffer 吸弃，更换新的吸头吸取等体积 Buffer MRP，反复涡旋 2~3 次混匀磁珠，然后保存至 2°C~8°C 条件下备用。
- 洗脱液 EB (Buffer EB) 的组分为 10 mM Tris-HCl (pH8.0) 和 0.5 mM EDTA (pH8.0)，若有特殊需求可自备洗脱缓冲液。
- 若样本为革兰氏阳性菌培养物，建议自备溶菌酶 (生工：A610308-0001，溶于 10 mM Tris-HCl PH=7.5 终浓度为 40 mg/mL)；若样本为真菌样本，则还需自备溶壁酶 (翊圣：10403ES81，10u/ μ L)，其他品牌溶菌酶与溶壁酶参考以上条件摸索最佳裂解方案。
- 使用前确保洗涤液 1 (Buffer BW1) 和洗涤液 2 (Buffer BW2) 已按照试剂瓶标签的提示量添加无水乙醇。
- 实验结束后，确保试剂瓶瓶盖拧紧，尤其是添加过无水乙醇的洗涤液 BW1 (Buffer BW1) 和洗

涤液 BW2 (Buffer BW2)。

【样本处理】

按照样本类型进行如下处理：

A. 脑脊液、肺泡灌洗液、痰液样本：取 700 μL ~800 μL 样本加入到 2.0 mL 螺丝管中（已加入 500 μL 氧化锆珠或玻璃珠），放入破壁仪中 5000 rpm 破壁 1 min，8000 rpm 离心 1 min，取 300 μL 破壁后得到的上清样品于 1.5 mL 离心管中继续操作。

B. 粘稠痰液样本：两种处理方式选其一：

1) 取 500 μL ~600 μL 样本可以补加 200 μL 裂解液 Buffer LB 后再加入到 2.0 mL 螺丝管中（已加入 500 μL 氧化锆珠），放入破壁仪中 5000 rpm 破壁 1 min，8000rpm 离心 1 min，取 300 μL 破壁后得到的 Mix 样品于 1.5 mL 离心管中继续操作。

2) 或取 500 μL 样本补加 500 μL 2% NaOH 溶液，盖紧管盖，振荡混匀 1 min，室温静置 15-20 min，不要超过 20 min，直至痰液完全变成易于流动的液体，10,000 rpm 离心 1 min，吸弃上清液，加入 300 μL PBS Buffer 或分子级水重选管底部沉淀后继续操作。

2% NaOH 溶液的配制：取 1g NaOH，溶于 40 mL 纯化水中，溶解后定容至 50 mL。

C. 血清、血浆样本：取 300-1000 μL 血清样本，8000 rpm，离心 5 min，保留 300 μL 下层血清，吸弃上层上清液继续操作。

D. 微生物培养液：

1) 革兰氏阴性菌培养物：取 1 mL 培养物于 1.5 mL 离心管中，8,000 rpm，离心 5 min，弃上清液 700 μL ，保留 300 μL 震荡重悬微生物细胞，继续操作。

2) 革兰氏阳性菌培养物：取 1 mL 菌液于 1.5 mL 离心管中，8,000 rpm，离心 5 min，弃上清液 800 μL ，保留 200 μL 震荡重悬微生物细胞，加入 100 μL 溶菌酶 (40 mg/mL)，37°C 孵育 20 min，继续操作。

3) 真菌培养物：取 1 mL 菌液于 1.5 mL 离心管中，8,000 rpm，离心 5 min，弃上清液 800 μL ，保留 200 μL 震荡重悬微生物细胞，加入 100 μL 溶菌酶消化液(40 mg/mL) 和 2 μL 酵母溶壁酶溶液 (10 u/ μL)，37°C 孵育 20 min，继续操作。

⚠ 注意：细菌的数量不应超过 10^9 个细菌，真菌的数量不应超过 10^8 个真菌，否则裂解不完全，会导致磁珠出现聚结现象，得率和纯度将降低。

【手工提取流程】

1. 向处理好的样本中加入 20 μL 蛋白酶 K 溶液，再加入 300 μL Buffer LB，振荡混匀后放置于恒温混匀仪上，转速控制在 1200 rpm，温度控制在 65°C 孵育 15 min。

2. (选做) 高温孵育：

- 1) A、B、C 类样本及 D 中的革兰氏阴性菌培养物，无需高温孵育，直接跳到步骤 3。
- 2) 对于提取难裂解的微生物包括革兰氏阳性菌和念珠菌等真菌：步骤 1 结束后将恒温混匀仪的温度调至 90°C，待温度升至 90°C 后，转速控制在 1200 rpm，继续孵育 10 min，再 8,000 rpm，离心 1 min，转移上清液至新的离心管中。
3. 装有样本的离心管中加入 350 μ L 异丙醇，振荡混匀。
4. 涡旋混匀磁珠 H (Magnetic Beads H)，确保磁珠彻底重悬后再吸取 20 μ L 磁珠 H (Magnetic Beads H) 加入到离心管中，振荡混匀，室温静置 3 min，中间混匀 2 次。
5. 将离心管放置磁力架上静置，待磁珠完全吸附后，小心吸弃上清液体。
6. 将离心管从磁力架上取下，加入 500 μ L 洗涤液 BW1 (Buffer BW1) (确保已加入无水乙醇)，振荡混匀，室温静置 1 min。

⚠ 注意：加入 Buffer BW1 后振荡混匀一定要充分，否则会影响提取的核酸纯度。

7. 将离心管放置磁力架上静置，待磁珠完全吸附后，小心吸弃上清液体。
8. 将离心管从磁力架上取下，加入 600 μ L 洗涤液 BW2(Buffer BW2) (确保已加入无水乙醇)，振荡混匀，室温静置 1 min。

⚠ 注意：加入 Buffer BW2 后振荡混匀一定要充分，否则会影响提取的核酸纯度。

9. 将离心管放置磁力架上静置，待磁珠完全吸附后，小心吸弃上清液体。
10. 重复步骤 8~9 一次，尽可能吸弃离心管中残留的液体。
11. 将离心管放置磁力架上，开盖室温干燥 5~10 min，确保乙醇挥发干净。
12. 将离心管从磁力架上取下，加入 80 μ L 洗脱液 EB (Buffer EB) (根据实际需求可调整回溶体积)，振荡混匀放置于恒温混匀仪上，转速控制在 1000 rpm，温度控制在 56°C 孵育 5 min。
13. 将离心管放置磁力架上，静置 1 min，待磁珠完全吸附后，小心吸取上清转移至一个新的收集管中，做好标记并于 -20°C 以下保存。

⚠ 注意：如果 DNA 溶液浑浊或有磁珠残留，8,000 rpm 离心 2 min，将上清液转移到新的离心管中保存。

【MGISP-960 自动化提取操作流程】

本试剂盒自动化提取流程适配 MGISP-960 配置 1/2/6/7/8/9/10 机型。

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】。

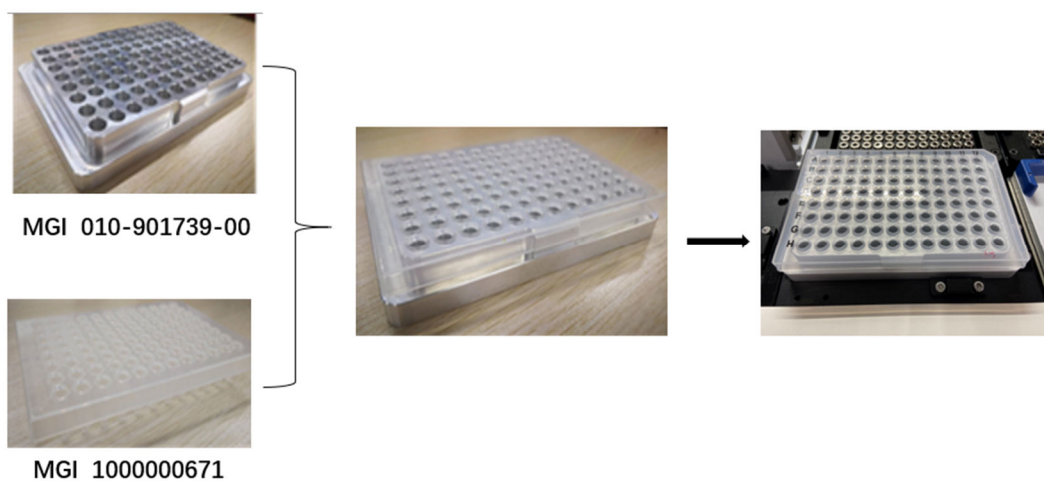
2. 耗材准备

根据表 3 所列的 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，置于常温备用。

表 3 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	1000000723	6 盒
1.3 mL 96 孔圆形孔 U 型底深孔板	MGI	1000004644	7 块
半裙边 96 孔 PCR 板	MGI	1000000671	1 块
适配器 (for 半裙边 96 孔 PCR 板)	MGI	010-901739-00	1 块

备注：适配器+半裙边 96 孔 PCR 板使用方法如下图所示（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：



3. 样本准备

高通量自动化样本制备系统可以对 1-96 个样本进行提取。

根据样本类型，将需提取样本进行前期处理，处理操作见前文【样本处理】，转移处理后的样本 220 μ L 到准备好的 96 孔深孔板中(MGI, 1000004644)。并保证底部无气泡，侧壁无挂液。置于冰上备用。

4. 试剂准备

- 1) 洗涤液 1 (Buffer BW1) 准备：提前按标签加入无水乙醇，使用前确认已加入无水乙醇。
- 2) 洗涤液 2 (Buffer BW2) 准备：提前按标签加入无水乙醇，使用前确认已加入无水乙醇。
- 3) 按照表 4 配制裂解混合液，颠倒混匀备用。

表 4 裂解混合液配制表

Item	Reagent	1rxn
裂解混合液	蛋白酶 K (Proteinase K)	20 μ L
	裂解液 LB (Buffer LB)	200 μ L

- 4) 取出 7 块深孔板 (MGI, 1000004644)，并按照表 5 加入相应的试剂

表 5 试剂体积

试剂名称	耗材	品牌	货号	试剂量
裂解混合液	深孔板	MGI	1000004644	220 μ L
样本	深孔板	MGI	1000004644	220 μ L
洗涤液 1 (Buffer BW1)	深孔板	MGI	1000004644	320 μ L
洗涤液 2 (Buffer BW2)	深孔板	MGI	1000004644	640 μ L
异丙醇	深孔板	MGI	1000004644	270 μ L
磁珠 H (Magnetic Beads H)	深孔板	MGI	1000004644	20 μ L
洗脱液 (Buffer EB)	深孔板	MGI	1000004644	90 μ L

5. 提取运行

- 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。

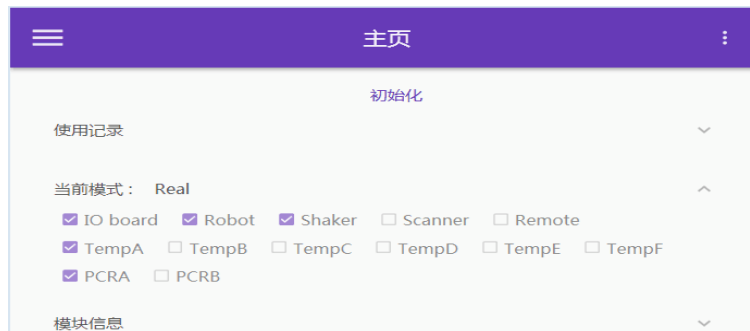


图 3 初始化界面

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。



图 4 初始化成功界面

- 5) 打开左侧导航栏，选择【运行导向】选项。在【运行导向】界面，如图 5 所示，点击【应用方案】下拉框，选择文件夹【JB-A09-098 MGISP-960 MGIEasy Microbiome DNA Extraction RV1.0_SV1.0】，点击【脚本】下拉框，选择脚本【MGIEasy Microbiome DNA Extraction_v1.0.py】，界面下方【操作台】处将出现如图 6 所示核酸提取需要准备的台面，将准备阶段备好的样品、试剂和耗材按下图放置完成并确认无误后关闭仪器门窗。



图 5 运行导向

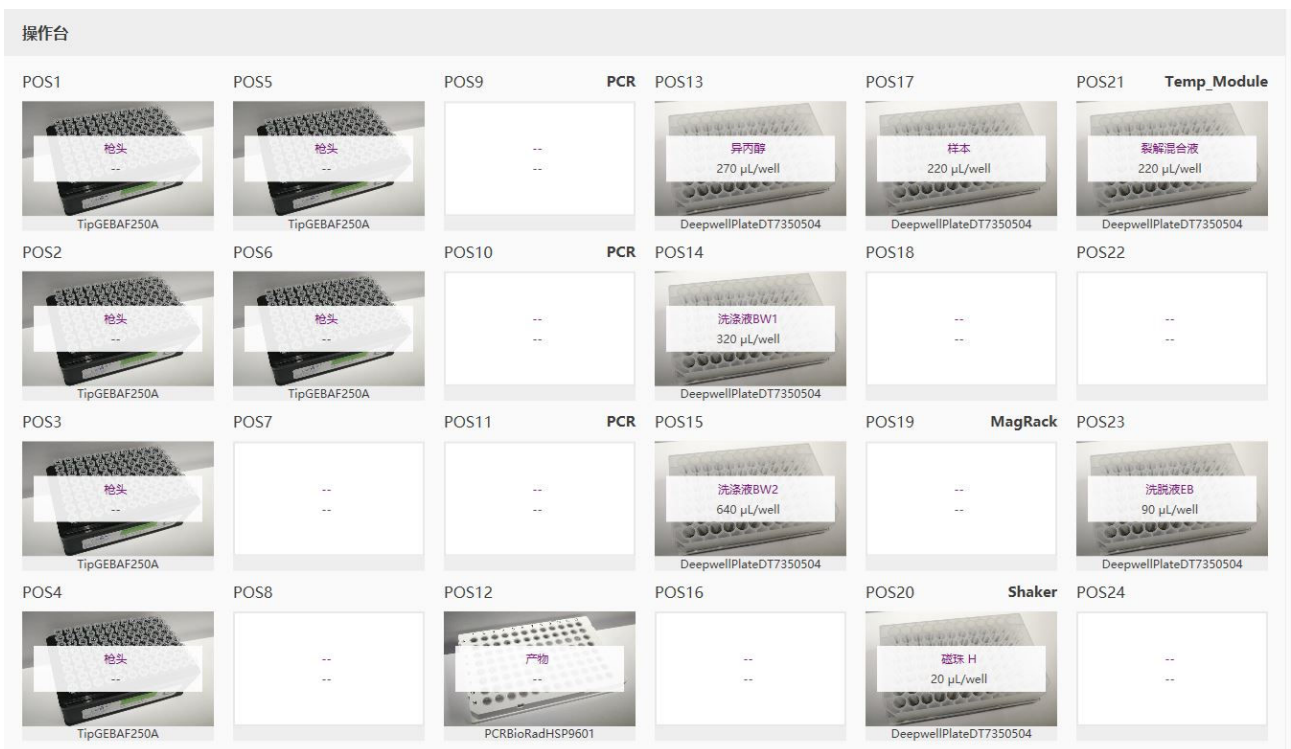


图 6 核酸提取台面布置图 (该台面截图以配置 2 为例，不同配置试剂的摆放位置相同)

- 6) 点击【运行】按钮后，提取开始。
- 7) 整个流程预计运行 1h10min 左右。运行过程中，用户可根据需要进行【暂停】和【恢复】。流程运行结束后，取出 Pos12 位置的 DNA 产物。
- 8) 做好标记并于 -20°C 冰箱保存待后续实验使用。
- 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。

✓ **停止点：提取的样本可长期保存于 -80°C 冰箱。**

【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. 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。
3. 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。
4. 所用过的吸头请打入盛有消毒剂的容器，并与废弃物一起灭菌后方可丢弃。

【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：

地址一：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

地址二：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