

MagPure Bacterial DNA Kit

磁珠法细菌 DNA 提取试剂盒

本产品为革兰氏阴性或阳性细菌 DNA 的提取提供了一个简单快速的解决方案。产品基于高结合力的纳米磁性粒子的纯化方式。细菌经溶菌酶和蛋白酶共同作用下裂解消化，DNA 释放到裂解液中。加入结合液和磁性粒子吸附 DNA，而蛋白质则不被吸附而去除。吸附了 DNA 的粒子经洗涤液洗涤去除蛋白质和其它杂质，再经含乙醇洗涤去除盐分，最后 DNA 被低盐缓冲液(EB)洗脱。洗脱的 DNA 可直接用于 PCR 等实验。

产 品 组 分

● 瓶装试剂

产品编号	D6361-00	D6361-01	D6361-02	D6361-03
纯化次数	24 次	48 次	96 次	480 次
MagPure Particles	0.6 ml	1.2 ml	2.5 ml	11 ml
Lysozyme	50 mg	90 mg	180 mg	900 mg
Proteinase K	6 mg	12 mg	24 mg	120 mg
Protease Dissolve Buffer	3 ml	5 ml	15 ml	30 ml
Buffer STE	15 ml	30 ml	60 ml	250 ml
Buffer SDS	1.0 ml	1.5 ml	3 ml	12 ml
Buffer MLA	15 ml	30 ml	60 ml	250 ml
Buffer BW1 *	13 ml	22 ml	44 ml	176 ml
Elution Buffer	5 ml	10 ml	50 ml	120 ml

保 存 条 件

本产品室温运输和保存，收到产品把 Lysozyme，Proteinase K 和 MagPure Particles 保存于 2-8℃，其余产品保存于室温，有效期 18 个月。

产品组分

- 预分装试剂，版本，尖底板

货号	预分装试剂和装量	D6361-TL-06 96 人份	D6361-S-48 48 人份
Lysozyme		180 mg	90 mg
Proteinase K		24 mg	12 mg
Protease Dissolve Buffer		15 ml	5 ml
Buffer STE		60 ml	30 ml
Buffer SDS		3 ml	1.5 ml
8联磁力外套		12 个	24 个
预装试剂板	第1/7排孔：500µl Buffer MLA	6 块	48 条
	第2/8排孔：500µl Buffer BW1		
	第3/9排孔：500µl Buffer BW1		
	第4/10排孔：500µl Buffer GW2 20µl MagPure Particles		
	第5/11排孔：500µl Buffer GW2		
	第6/12排孔：100µl Elution Buffer		

保存条件

本产品室温运输和保存，收到产品把 Lysozyme 和 Proteinase K 保存于 -2-8℃，其余产品保存于室温，有效期 18 个月。

需要准备材料

- 75%乙醇
- 溶解 Lysozyme(50mg/ml)：加入适量的 Protease Dissolve Buffer 至 Lysozyme 干粉中至终浓度为 50mg/ml。轻轻颠倒让溶菌酶充分溶解。保存于-20℃。
- 溶解 Proteinase K (20mg/ml)：加入适量的 Protease Dissolve Buffer 至 Proteinase K 干粉中至终浓度为 20mg/ml。轻轻颠倒让溶菌酶充分溶解。保存于-20℃。
- Buffer BW1 使用前，须按瓶子标签所示，加入无水乙醇进行稀释。
- MagPure Particles 初次使用时，必须剧烈摇晃 1-2 分钟让磁珠充分分散。

第一部分: 样品的裂解和消化

1. 用溶菌酶对样品进行前处理:

- **发酵液或培养液 (革兰氏阴性菌):** 转:1.0~1.5ml 细菌培养液或发酵液($<2 \times 10^9$ 个细菌)至 1.5ml 离心管中。10,000 x g 离心 1 分钟收集细菌, 倒弃培养液。加入 200 μ l Buffer STE 和 20 μ l Buffer SDS 和 10 μ l Proteinase K 至样品中, 混匀, 65°C 温育 30 分钟, 13000xg 离心 3 分钟, 取 200 μ l 上清液上机, 按第 2/3 部分进行上机操作。
 - **发酵液或培养液:** 转:1.0~1.5ml 细菌培养液或发酵液($<1.5 \times 10^9$ 个细菌)至 1.5ml 离心管中。10,000 x g 离心 1 分钟收集细菌, 倒弃培养液。加入 250 μ l Buffer STE 和 30 μ l Lysozyme, 涡旋重悬沉淀, 37°C 800-1200rpm 振荡温育 30~120 分钟。
 - **组织类样品:** 取 30~50mg 组织样品, 加入 0.5ml Buffer STE 进行充分匀浆, 取 0.25ml 匀浆液, 加入 30 μ l lysozyme 和至匀浆液中, 37°C, 800-1200rpm 振荡温育 30~120 分钟。
 - **全血类样品:** 取 1ml 抗凝血液至 2ml 离心管中, 加入 0.5ml 体积灭菌水和 20 μ l Buffer SDS, 颠倒混匀 5 次, 12,000 x g 离心 3 分钟收集细菌。吸弃上清, 加入 250 μ l Buffer STE 和 30 μ l lysozyme, 37°C, 800-1200rpm 振荡温育 30~120 分钟。
 - **分泌物、浸泡液、体液类等:** 取 250 μ l 分泌液、血清、血浆、血水、拭子浸泡液或体液样品, 加入 30 μ l Lysozyme, 37°C, 800-1200rpm 振荡温育 30~120 分钟。
 - **干拭子样品:** 转移拭子至 2ml 离心管中, 加入 300~350 μ l Buffer STE 和 30 μ l Lysozyme, 涡旋混匀, 37°C, 800-1200rpm 振荡温育 30~120 分钟。
2. 加入 20 μ l Buffer SDS 和 10 μ l Proteinase K, 混匀, 65°C 振荡温育 30 分钟。
 3. (可选) 加入 10 μ l RNase Solution 混匀, 室温放置 10 分钟消化 RNA。
 4. 13,000 x g 离心 3 分钟, 取 250~300 μ l 上清液按第 2/3 部分进行上机操作。

第二部分: 单管操作

1. 在 1.5ml 离心管中, 加入 20 μ l MagPure Particles 和 500 μ l Buffer MLA。
2. 转移 250~300 μ l 上清液 (第 4 步) 至含有 MLA 和磁珠的离心管中。颠倒混匀 10-15 次, 室温放置 6 分钟, 其间涡旋混匀几次。转移至磁力架上吸附 2 分钟, 倒弃或吸弃溶液。
3. 加入 700 μ l Buffer BW1, 涡旋 10 秒。转移至磁力架上吸附 1 分钟, 倒弃或吸弃溶液。
4. 加入 700 μ l 75%乙醇, 涡旋 10 秒。转移至磁力架上吸附 1 分钟, 倒弃或吸弃溶液。
5. 加入 700 μ l 75%乙醇, 涡旋 10 秒。转移至磁力架上吸附 1 分钟, 倒弃或吸弃溶液。

6. 短暂离心收集管壁上液滴，转移至磁力架上，吸尽残液。空气干燥 10 分钟。
7. 加入 100µl Elution Buffer，涡旋打散磁珠。55℃ 振荡温育 10 分钟。若无振荡温匀，其间涡旋混匀 2~3 次加速 DNA 的溶解。
8. 转移至磁力架上吸附 5 分钟，把 DNA 转移至新的离心管中。

第三部分: 32/48 通道核酸提取仪操作

1. 瓶装试剂：按预分装试剂表格所示，按各种试剂分装至 96 孔板的对应孔中。
- 预分装试剂：颠倒 96 孔板让磁珠充分悬浮，正放 1 分钟后，去除封口袋和封口膜。
2. 在第 1/7 排孔中，加入 250~300µl 上清液（第一部分第 4 步）。
3. 把磁力外套插到仪器中，把 96 孔板放到仪器中(A1 孔按左内角放置)。
4. 编写程序，并启动对应程序。约 30 分钟，提取结束。
5. 取出 96 孔板和磁力外套。
6. 把 DNA 转移至 1.5ml 离心管中，把产物保存于-20~8℃。

MagMix 16/32/48 核酸提取仪参数

序号	步骤名称	孔位	容积	混合时间		等待		磁吸时间			吸磁	加热	
				时间	速度	时间	位置	升降	液面	底部		板位	温度
1	吸磁	4	500	10s	8	0	0	30s	0	0	自动	/	/
2	结合	1	800	360s	8	0	0	60s	0	0	自动	1	50
3	清洗1	2	500	60s	8	0	0	50s	0	0	自动	/	/
4	清洗2	3	500	60s	8	0	0	50s	0	0	自动	/	/
5	清洗3	4	500	60s	8	0	0	50s	0	0	自动	/	/
6	清洗4	5	500	60s	8	0	0	50s	0	0	自动	/	/
7	干燥	5	0	0	0	5min/晾干		0	0	0	自动	/	/
8	洗脱	6	100	480s	9	0	0	60s	0	0	自动	6	55
9	弃磁1	5	500	10s	9	0		0	0	0	自动	/	/