

## 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。

### 产品组份

- 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。

## 产品组份

- 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: 500 $\mu$ l Buffer MLA	6 块	48 条
	第2/8排孔: 500 $\mu$ l Buffer BW1		
	第3/9排孔: 500 $\mu$ l Buffer BW1		
	第4/10排孔: 500 $\mu$ l Buffer GW2 20 $\mu$ l MagPure Particles		
	第5/11排孔: 500 $\mu$ l Buffer GW2		
	第6/12排孔: 100 $\mu$ l 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 $^{\circ}$ C, 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 $^{\circ}$ C。
- 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 $^{\circ}$ C。
- 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:** 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 × g 离心 1 分钟收集细菌, 倒弃培养液。加入 200μl Buffer STE 和 30μl Lysozyme, 涡旋重悬沉淀, 室温放置 15 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 30μl Lysozyme 和至匀浆液中, 颠倒混匀, 室温放置 15 分钟。
- **全血类样品:** 取 0.5ml 抗凝血液至 2ml 离心管中, 加入 1.0ml 体积灭菌水和 20ul Buffer SDS, 颠倒混匀 5 次, 12,000 × g 离心 3 分钟收集细菌。吸弃上清, 加入 200μl Buffer STE 和 30μl Lysozyme, 涡旋重悬沉淀, 室温放置 15 分钟。
- **分泌物、浸泡液、体液类等:** 取 200μl 分泌物、拭子浸泡液或体液样品, 加入 30μl Lysozyme, 涡旋混匀, 室温放置 15 分钟。
- **干拭子样品:** 转移拭子至 2ml 离心管中, 加入 300~350μl Buffer STE 和 30μl Lysozyme, 涡旋混匀, 室温放置 15 分钟。

### 2. 加入 20μl Buffer SDS 和 10μl Proteinase K 至样品中, 涡旋混匀, 65°C 温育 20 分钟。

- (可选) 处理难裂解的革兰氏阳性细菌时: 90°C 再温育 20 分钟。

### 3. 13,000 × g 离心 3 分钟, 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 20μl MagPure Particles 和 500μl Buffer MLA。
2. 转移 250~300μl 上清液 (第 3 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 700μl 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 700μl 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 700μl 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°C 振荡温育 10 分钟。若无振荡混匀, 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 250~300 $\mu$ l 上清液 (第一部分第 3 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 $^{\circ}$ C。

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	30s	8	0	0	90s	0	0	自动	/	/
2	结合	1	800	300s	8	0	0	90s	0	0	自动	/	/
3	清洗1	2	500	60s	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
4	清洗2	3	500	60s	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
5	清洗3	4	500	60s	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
6	清洗4	5	500	60s	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
7	干燥	5	0	0	0	6min/晾干		0	0	0	自动	/	/
8	洗脱	6	100	360s	9	0	0	60s	0	0	自动	6	55
9	弃磁1	5	500	30s	9	0		0	0	0	自动	/	/