

MagPure Bacterial DNA Kit B

磁珠法细菌 DNA 提取试剂盒 B

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	D6361-00B	D6361-01B	D6361-02B	D6361-03B
纯化次数	24 次	48 次	96 次	480 次
匀浆管 C	24 次	48 次	96 次	480 次
MagPure Particles	0.6 ml	1.2 ml	2.5 ml	11 ml
Proteinase K Solution	0.6 ml	1.2 ml	2.5 ml	11 ml
Buffer MLA	15 ml	30 ml	60 ml	250 ml
Buffer BW1 *	13 ml	13 ml	26 ml	132 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 Proteinase K Solution 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

货号	预分装试剂和装量	D6361B-TL-06 96 人份	D6361B-S-48 48 人份
匀浆管 C		96 次	48 次
Proteinase K Solution		2.5 ml	1.2 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：空		
	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时，把 Proteinase K Solution 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

- 80%乙醇
- 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：样品的匀浆和裂解

1. 在匀浆管 C 中，加入 20µl Proteinase K Solution 以及 0.3~0.6ml 细菌培养液、发酵液、拭子浸泡液、组织匀浆液、积液、血水、体液等液体样品，盖上盖子。

- 处理干拭子/固体样品时，直接把样品转移至匀浆管中，补加入 500 μ l PBS 或生理盐水。
 - 处理富含体细胞体液样品时（全血、血水、积液、痰液液化液、组织匀浆液、唾液等），于 1,000 \times g 离心 5 分钟去除体细胞，然后再转移上清液进行操作，以减少体细胞对提取的影响。
 - 痰液样品，用 DTT 进行充分液化后再进行操作。
2. **根据实验室条件，选择珠磨进行裂解。**
- 涡旋仪：推荐使用美基涡旋仪 MagMix A，这台涡旋仪带 2ml 离心管的夹具，可一次高效处理 10~20 个样品。根据样品的不同，使用涡旋仪时，珠磨裂解时间增加到 15~30 min 可能是有利的，可以根据目标菌群特性和下游应用来调整。
 - Powerlyzer 珠磨仪：建议 2000rpm 珠磨 30 秒，暂停 30 秒，再 2000rpm 珠磨 30 秒。
 - FastPrep24 珠磨仪：建议 5m/s，珠磨 30 秒，暂停 30 秒，再 5m/s 珠磨 30 秒。
 - Tissue Lysis II 珠磨仪：建议 25Hz 珠磨 5 分钟，重新调整位置后再 25Hz 珠磨 5 分钟。
3. 13,000 \times g 离心 1~3 分钟或静置 3-5 分钟让研磨珠沉淀。

第二部分：单管操作

4. 转移 300~350 μ l 上清液至新的离心管中，加入 20 μ l MagPure Particles 和 500 μ l Buffer MLA。颠倒混匀 10-15 次，室温放置 6~10 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。
5. 加入 500 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。
6. 加入 500 μ l 80%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。
7. 加入 500 μ l 80%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。
8. 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。
9. 加入 50~100 μ l Elution Buffer，涡旋打散磁珠。55 $^{\circ}$ C 振荡温育 10 分钟。若无振荡温育，其间涡旋混匀 2~3 次加速 DNA 的溶解。
10. 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 300~350 μ l 上清液 (第一部分的第 1-3 步进行操作)。
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 25 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	20s	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
2	消化	1	800	300s	8	0	0	90s	0	0	自动	1	85
3	结合	1	800	300s	8	0	0	90s	0	0	自动	/	/
4	清洗1	2	500	60s	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
5	清洗2	4	500	60s	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
6	清洗3	5	500	60s	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
7	干燥	5	0	0	0	5min/晾干		0	0	0	自动	/	/
8	洗脱	6	100	300s	9	0	0	60s	0	0	自动	6	55
9	弃磁1	5	500	30s	9	0		0	0	0	自动	/	/