

## MolPure® Magnetic Bacterial/Fungal DNA Kit

### 磁珠法细菌/真菌 DNA 提取试剂盒

#### 产品简介

MolPure® Magnetic Bacterial DNA Kit 为革兰氏阴性、革兰氏阳性细菌和真菌 DNA 的提取提供了一个简单快速的解决方案，该方法采用超顺磁性的磁性粒子纯化技术，提取过程中无需使用有毒的酚氯仿抽提，操作简单方便，纯化的 DNA 可直接用于酶切、PCR、测序和标记等相关实验。

#### 产品信息

货号	18565ES24/18565ES48
规格	24T/48 T

#### 组分信息

类别	组分编号	组分名称	18565ES24	18565ES48
Part I	18565-A	RNase A	3 mg×1 支	6 mg×1 支
	18565-B	蛋白酶 K	0.6 mL×1 支	1.1 mL×1 支
Part II	18565-C	酶溶解液	0.5 mL×1 支	1 mL×1 支
	18565-D	裂解液	13 mL×1 瓶	25 mL×1 瓶
	18565-E	裂解结合液	17 mL×1 瓶	33 mL×1 瓶
	18565-F	磁珠悬浮液	0.6 mL×1 瓶	1.1 mL×1 瓶
	18565-G	洗涤液 A	20 mL×1 瓶	40 mL×1 瓶
	18565-H	洗涤液 B	20 mL×1 瓶	40 mL×1 瓶
	18565-I	洗涤液 C	20 mL×1 瓶	40 mL×1 瓶
	18565-J	洗脱液	3 mL×1 瓶	6 mL×1 瓶
	18565-K	研磨管	0.9 g×24 支	0.9 g×48 支

#### 储存条件

- 1.Part I 室温运输，2~8°C保存，有效期 18 个月；
- 2.Part II 室温运输，室温避光保存，有效期 18 个月。

#### 注意事项

1. 本试剂盒中的多种缓冲液含有刺激性的胍盐，务必戴上手套，并按照安全标准预防措施来处理。不要让缓冲液接触到皮肤、眼睛以及黏膜，如果确实发生，请立即用大量清水清洗并就医。
2. 如因气温较低，溶液出现沉淀，需要 30°C水浴至沉淀完全溶解后方可使用。
3. 如因气温较低，裂解液出现沉淀，可 60°C水浴至沉淀完全溶解后使用。
4. 如因气温较低，用力振荡后磁珠无法重悬，请勿使用。
5. 本试剂盒中的多种缓冲液含胍盐，请勿用氧化性消毒剂如次氯酸钠进行处理，否则会释放有毒气体，须按医疗废物进行处理。

6. 本产品仅作科研用途!

## 操作方法

### 1 试剂准备

1.1 实验前检查溶液是否有沉淀，磁珠是否能重悬。

1.2 溶解 RNase A (10 mg/mL): 18565ES24 加入 **0.3 mL 酶溶解液**, 18565ES48 加入 **0.6 mL 酶溶解液**, 溶解 RNase A 至终浓度为 10 mg/mL, 颠倒混匀/轻柔涡旋让 RNase A 充分溶解, 溶解后的 RNase A 须保存于-20~8°C。

### 2 操作步骤

磁分离操作建议 (步骤 2.9 开始): 离心管置于磁力架后, 轻轻地左右旋转, 待磁珠聚集于贴近磁力架的管壁后, 轻轻地颠倒磁力架数次, 使管盖上的磁珠也聚集到管壁, 静置数分钟至溶液澄清即可 (静置时长视磁力架磁性而定)。

2.1 取 0.5~1 mL 细菌/真菌培养液 (约  $10^6\sim 10^9$  个菌) 于 1.5 mL 离心管,  $10,000\times g$  离心 1 min, 收集细菌, 尽量吸弃上清。

2.2 根据不同样本类型选择对应步骤进行处理

A. 非真菌类、易裂解细菌 DNA 提取: 加入 **200~300  $\mu$ L 裂解液**和 **20  $\mu$ L 蛋白酶 K**, 高速涡旋 1 min 混匀。

易裂解细菌: 革兰氏阴性菌如大肠杆菌、痢疾杆菌、伤寒杆菌、变形杆菌、流感嗜血杆菌、嗜肺军团菌、百日咳杆菌、霍乱弧菌等。

B. 真菌类、难裂解细菌 DNA 提取: 加入 **350~450  $\mu$ L 裂解液**和 **20  $\mu$ L 蛋白酶 K**, 涡旋混匀后瞬时离心, 将所有溶液转至**研磨管**中, 在涡旋仪最大转速涡旋或转移至震荡破碎仪高速研磨样本 10~15 min (不同品牌震荡破碎仪, 请选择仪器推荐程序)。

真菌: 酵母菌、假丝酵母、黄曲霉、白地霉、抗生素等。

难裂解细菌: 革兰氏阳性菌如葡萄球菌、肠球菌、链球菌、肺炎双球菌、炭疽杆菌、白喉杆菌、破伤风杆菌等。

2.3 65°C 振荡温浴 15~30 min, 若恒温仪无振荡功能, 可在温浴期间每 5 min 取出涡旋 1 次, 每次 10~20 s。

2.4 加入 **10  $\mu$ L RNase A** 至消化液中, 涡旋混匀后室温放置 10~15 min (如样本量过大造成 RNA 残留, 此时建议降低样本量)。

2.5 若裂解后样本出现浑浊, 可涡旋混匀后  $10,000\times g$  离心 1 min; 若裂解后溶液清澈透明, 涡旋混匀后瞬时离心。

备注: 如木霉菌等真菌离心后上清有颜色, 可额外咨询我司沉淀液, 按以下流程操作: 取 300  $\mu$ L 离心后上清到新的离心管中, 加入 100  $\mu$ L 沉淀液混匀后, 4°C 冰浴 10 min,  $10,000\times g$  离心 3 min。

2.6 将上清转至新的 1.5 mL 离心管, 小心吸取, 避免吸到沉淀 (否则可能导致 RNA 残留)。

2.7 加入 **600  $\mu$ L 裂解结合液**, 高速涡旋混匀 10 s。

2.8 加入 **20  $\mu$ L 磁珠悬浮液**, 振荡或涡旋 5~7 min 使磁珠吸附 DNA。

2.9 转移至磁力架上进行磁分离至溶液澄清, 吸弃溶液。

2.10 加入 **700  $\mu$ L 洗涤液 A**, 浸泡 30 s, 涡旋 10 s 打散磁珠后转至磁力架进行磁分离至溶液澄清, 吸弃溶液。

2.11 加入 **700  $\mu$ L 洗涤液 B**, 涡旋 10 s 打散磁珠后转至磁力架进行磁分离至溶液澄清, 吸弃溶液。

2.12 加入 **700  $\mu$ L 洗涤液 C**, 涡旋 10 s 打散磁珠后转至磁力架进行磁分离至溶液澄清, 吸弃溶液。

2.13 掌上离心机瞬时离心后, 转至磁力架上吸附至溶液澄清, 充分吸弃所有溶液, 打开管盖, 空气干燥 3~5 min。

注意: 乙醇残留会抑制后续的酶反应, 晾干时要确保乙醇挥发干净。切勿干燥过久, 以免影响后续洗脱效果。

2.14 加入 **50~100  $\mu$ L 洗脱液**, 高速涡旋 2~3 min 打散磁珠。

2.15 60°C 温浴 5 min, 然后高速涡旋 30 s。重复洗脱 1 次可增加产量。

2.16 瞬时离心收集管盖液滴至管中, 转移至磁力架上进行磁分离至溶液澄清。

2.17 把基因组 DNA 溶液转移至新的离心管中待用。如果不立即使用, 请存储于-15~-25°C, 长期保存请放置于-70°C或更低的温度。