

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	24 T/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℃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℃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℃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

试剂准备

- ❖ 实验前检查溶液是否有沉淀，磁珠是否能重悬。
- ❖ 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。

操作步骤

磁分离操作建议: 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)。

第一部分: 样本处理

1.1 取 0.5~1 mL 细菌/真菌培养液 (约 10^6 ~ 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。

1.2 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 μ L 裂解液和 20 μ 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 μ L 裂解液和 20 μ 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。

1.3 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。

1.4 加入 10 μ 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)。

1.5 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 μ L 离心后上清到新的离心管中, 加入 100 μ L 沉淀液混匀后, 4°C 冰浴 10 min, $10,000\times g$ 离心 3 min。

第二部分: 单管操作

2.1 将步骤 1.5 的上清转至新的 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)。

2.2 加入 600 μ L 裂解结合液, 高速涡旋混匀 10 s。

2.3 加入 20 μ L 磁珠悬浮液, 振荡或涡旋 5~7 min 使磁珠吸附 DNA。

2.4 转移至磁力架上进行磁分离至溶液澄清, 吸弃溶液。

2.5 加入 700 μ 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。

2.6 加入 700 μ 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。

2.7 加入 700 μ 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。

2.8 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。

2.9 加入 40~100 μ L 洗脱液, 高速涡旋 2~3 min 打散磁珠。

2.10 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。

2.11 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。

2.12 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℃，长期保存请放置于-70℃或更低的温度。

第三部分：搭配翌圣 AP-16S 和 AP-48 核酸提取仪操作

3.1 将瓶装试剂分装至 96 孔板（Cat#83671ES）对应的孔中，按如下表格分装：

列	步骤	溶液名称	分装体积
1/7 列	结合	裂解结合液	600 μL
2/8 列	—	—	—
3/9 列	漂洗 1	洗涤液 A	800 μL
4/10 列	漂洗 2	洗涤液 B	800 μL
5/11 列	洗脱	洗脱液	100 μL
6/12 列	漂洗 3	磁珠悬浮液	20 μL
		洗涤液 C	800 μL

3.2 吸取**步骤 1.5**的上清溶液加入样本处理孔（第 1、7 列）并吹打混匀 3-5 次。

3.3 按照提取仪的位置，正确安放上述 96 孔预装板，并放置 8 联磁棒套（Cat#83663ES）。**根据使用的提取仪，AP-16S 和 AP-48 分别启动不同的程序。**

3.4 运行如下程序，程序结束后，洗脱孔（第 5、11 列）中的溶液即为核酸溶液。溶液可置于-20℃短期保存，-80℃长期保存。

16 通道核酸提取仪 AP-16S 的提取程序

步骤	第 1 步	第 2 步	第 3 步	第 4 步	第 5 步	第 6 步	第 7 步
工位	6	1	3	4	6	5	6
等待时间	0:00:00	0:00:00	0:00:00	0:00:00	0:00:00	0:01:00	0:00:00
混合模式	3	3	3	3	3	4	3
混合时间	0:00:30	0:10:00	0:01:00	0:01:00	0:01:00	0:05:00	0:00:30
是否暂停	否	否	否	否	否	否	否
吸磁时间	0:00:30	0:03:00	0:01:00	0:01:00	0:01:00	0:03:00	0:00:00
体积	400	900	800	800	800	100*	800
温度	--	0℃	--	--	--	70℃	--
混合模式：M3 混合时间 10s，混合速度 18000							
混合模式：M4 混合时间 10s，混合速度 23000							

备注：第 6 步洗脱体积，可以根据实际加入的洗脱液体积设置。

48 通道核酸提取仪 AP-48 的提取程序及混合模式

步骤	第 1 步	第 2 步	第 3 步	第 4 步	第 5 步	第 6 步	第 7 步
工位	6	1	3	4	6	5	6
等待时间	0:00:00	0:00:00	0:00:00	0:00:00	0:00:00	0:01:00	0:00:00
混合模式	3	3	3	3	3	4	3
混合时间	0:00:30	0:10:00	0:01:00	0:01:00	0:01:00	0:05:00	0:00:30
是否暂停	否	否	否	否	否	否	否
吸磁时间	0:00:30	0:03:00	0:01:00	0:01:00	0:01:00	0:03:00	0:00:00
体积	400	900	800	800	800	100*	800
温度	--	0°C	--	--	--	70°C	--
混合模式 3: 速度 300000 混合速度 10s							
混合模式 4: 速度 400000 混合速度 10s							

第四部分：搭配翌圣 AP-96N 核酸提取仪操作

4.1 将瓶装试剂分装至对应的 96 孔板 (Cat#83671ES)，按如下表格分装：

板位	步骤	试剂名称	投入量
板位 1	结合	裂解结合液	600 μ L
板位 2	—	—	—
板位 3	漂洗 1	洗涤液 A	800 μ L
板位 4	漂洗 2	洗涤液 B	800 μ L
板位 5	漂洗 3	磁珠悬浮液	20 μ L
		洗涤液 C	800 μ L
板位 6	洗脱	洗脱液	100 μ L

4.2 吸取步骤 1.5 的上清溶液加入板位 1（裂解结合板）中，并吹打混匀 3-5 次。

4.3 将各 96 孔板按顺序放入核酸提取仪器中，并放置好 96 深孔磁棒套 (Cat#83661ES)。

4.4 运行如下程序，程序结束后，将洗脱板中的洗脱液转移至新的离心管中，溶液可置于 -20°C 短期保存，-80°C 长期保存。

AP-96N 通道核酸提取仪的提取程序

步骤	第 1 步	第 2 步	第 3 步	第 4 步	第 5 步	第 6 步	第 7 步
工位	5	1	3	4	5	6	5
等待时间	0:00:00	0:00:00	0:00:00	0:00:00	0:00:00	0:01:00	0:00:00
混合模式	3	3	3	3	3	4	3
混合时间	0:00:30	0:10:00	0:01:00	0:01:00	0:01:00	0:05:00	0:00:30
是否暂停	否	否	否	否	否	否	否
吸磁时间	0:00:30	0:03:00	0:01:00	0:01:00	0:01:00	0:03:00	0:00:00
体积	400	900	800	800	800	100*	800
温度	--	0°C	--	--	--	70°C	--
混合模式 3: 速度 300000 混合速度 10s							
混合模式 4: 速度 400000 混合速度 10s							