

## MagPure Fungal HW DNA Kit

### 磁珠法真菌高分子量 DNA 试剂盒

本产品为真菌样品的 DNA 快速制备提供了一个自动化的解决方案。试剂盒基于高结合力的纳米磁性粒子的纯化方式。样品在裂解液作用下裂解，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，再经含乙醇洗涤液洗涤去除盐分，最后 DNA 被低盐缓冲液(Elution Buffer)洗脱。洗脱的 DNA 可直接用于 PCR、限制性内切酶酶切等下游实验。

### 产 品 组 份

| 产品编号           | D6384-01 | D6384-02 | D6384-03   |
|----------------|----------|----------|------------|
| 纯化次数           | 48 次     | 96 次     | 5 × 96 次   |
| 氧化锆珠 0.6-0.8mm | 5 g      | 10 g     | 50 g       |
| RNase Solution | 0.6 ml   | 1.1 ml   | 6 ml       |
| 磁珠液 MPG2       | 1.5 ml   | 3.0 ml   | 15 ml      |
| Buffer STL     | 20 ml    | 40 ml    | 70 ml      |
| Buffer CXP     | 25 ml    | 50 ml    | 220 ml     |
| Buffer GW1 *   | 44 ml    | 88 ml    | 2 × 220 ml |
| Buffer GW2     | 20 ml    | 25 ml    | 2 × 100 ml |
| Buffer GW3     | 50 ml    | 90 ml    | 400 ml     |
| Elution Buffer | 10 ml    | 30 ml    | 100 ml     |

### 保 存 条 件

本产品室温运输，长期保存时，把 RNase 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

| 货 号            |                               | 试剂组份与装量 | D6384-TL-06 | D6384-S-48 |
|----------------|-------------------------------|---------|-------------|------------|
| 氧化锆珠 0.6-0.8mm |                               |         | 10 g        | 5 g        |
| RNase Solution |                               |         | 1.1 ml      | 0.6 ml     |
| Buffer STL     |                               |         | 70 ml       | 40 ml      |
| TL-Tip         |                               |         | 12 个        | 24 个       |
| 尖底板<br>试剂条     | 1/7孔: 400µl Buffer CXP        |         | 6 块         | 48 条       |
|                | 2/8孔: 750µl 洗涤液GW1            |         |             |            |
|                | 3/9孔: 750µl 洗涤液GW1            |         |             |            |
|                | 4/10孔: 750µl 洗涤液GW2&20µl MPG2 |         |             |            |
|                | 5/11孔: 750µl 洗涤液GW3           |         |             |            |
|                | 6/12孔: 100µl 洗脱液 EB           |         |             |            |

保存条件

本产品室温运输，长期保存时，把 RNase Solution 保存于 2-8℃，其余产品保存于室温，有效期 18 个月。

准备工作

- 准备 2ml 匀浆管 F：2ml 螺口离心管，加入 0.5~0.7g 氧化锆珠 0.6-0.8mm.
- Buffer GW1/GW2 使用前，须按瓶子标签所示，加入无水乙醇进行稀释。

第一部分. 样 品 裂 解

该方案采用氧化锆珠珠磨裂解真菌细胞壁，适合于从液体培养真菌、菌丝体、孢子粉、微量真菌或细菌、寄生真菌等样品中提取高纯度的总 DNA。

1. 真菌或细菌样品的收集：

- **固体培养真菌或细菌：**加入 1.0~1.8ml 生理盐水或 PBS 从固体培养基刮洗出真菌，并转移至 2.0ml 离心管中，13,000 x g 离心 3 分钟收集真菌，倒弃上清液。
- **液体培养真菌或：**转移 1.8ml 培养液(真菌湿重不要超过 100mg)至 2.0ml 离心管中，13,000 x g 离心 3 分钟收集真菌或细菌，倒弃上清液。

- **孢子粉**：转移 30-50mg 孢子粉至 2.0ml 离心管中。
  - **体液中寄生微生物**：转移 1.0-1.8ml 血清，血清，分泌液，拭子浸泡液、组织匀浆液，体液等至 2.0ml 离心管中。13,000 × g 离心 10 分钟收集微生物，倒弃上清液。
  - **痰液**：取适量痰液，加入 4 倍体积的新鲜制备的 0.1% DTT 溶液，涡旋混匀 10 秒，室温放置 15~30 分钟，期间要不断涡旋震荡，直至团块消失，痰液全部匀质化。取 1.8ml 液化液至 2.0ml 离心管中，13,000 × g 离心 10 分钟收集微生物，倒弃上清液。
  - **全血**：取 0.5ml 全血至离心管中，加入 3 倍红细胞裂解液（10 × Buffer RBC）裂解红细胞，500 × g 离心 5 分钟沉淀去除白细胞。转移 1.5~1.8ml 上清液至 2.0ml 离心管中，13,000 × g 离心 10 分钟收集微生物，倒弃上清液。
  - **组织中寄生真菌或细菌**：取 30~100mg 冻存或新鲜的动植物组织，加入 1.0~1.5ml 生理盐水或 PBS 进行充分匀浆，静置 1~3 分钟沉淀去除大颗粒后，转移上清液至 2ml 离心管中，13,000 × g 离心 10 分钟收集微生物，倒弃上清液。
2. 加入 600µl Buffer STL 和 10µl RNase Solution 至样品中，涡旋重悬沉淀，然后转移全部重悬液至 2ml 匀浆管中，盖紧盖子，在涡旋仪上最高速度涡旋 10 分钟，或珠磨仪进行高效珠磨。
- 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。实验室常用的涡旋仪或带振荡功能的恒温金属浴也可以使用，使有恒温金属浴时需要 2ml 离心管中，让管子间的磨擦力防止管子无效旋转减少珠磨效果。
  - 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. 13000 × g 离心 3 分钟，按第 2 或 3 部分进行操作。

## 第二部分. 单管操作

1. 转移 500 µl 消化液（第一步）至 1.5ml 离心管中。
2. 加入 350 µl Buffer CXP 和 25 µl 磁珠液 MPG2 至样品中，缓慢颠倒混匀 15~30 次，室温静置 10 分钟，其间颠倒混匀数次。转移至磁力架上吸附 1 分钟，倒弃或吸弃溶液。使用前，磁珠 MPG2 需要充分重悬。这一步可以于 1000-1200rpm 振荡 2 分钟。
3. 加入 750 µl Buffer GW1，用移液器吸打混匀 10 次或 800~1200rpm 振荡温育 1 分钟，转移至磁力架上吸附 1 分钟，倒弃或吸弃溶液。
4. 加入 750 µl Buffer GW1，用移液器吸打混匀 10 次或 800~1200rpm 振荡温育 1 分钟，转移至磁力架上吸附 1 分钟，倒弃或吸弃溶液。
5. 加入 750 µl Buffer GW2，用移液器吸打混匀 10 次或 800~1200rpm 振荡温育 1 分钟，转

移至磁力架上吸附 1 分钟，倒弃或吸弃溶液。

- 6. 加入 750 µl Buffer GW2，用移液器吸打混匀 10 次或 800~1200rpm 振荡温育 1 分钟，转移至磁力架上吸附 1 分钟，倒弃或吸弃溶液。
- 7. 不要从磁力架上取下离心管中，加入 750 µl Buffer GW3，不要打散磁珠，静置 60 秒，小心吸弃溶液。
- 8. 加入 50~100 µl Elution Buffer，移液器吸打混匀 10 次或 800~1000rpm 振荡温育 5 分钟，室温放置 5 分钟。转移至磁力架上吸附 2 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 孔板对应的孔中。  
预分装试剂：振荡 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 400µl 消化液(第一步部分)。
- 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. 启动程序，约 30 分钟，结束提取。取出 96 孔板和磁力外套。
- 5. 把 DNA 转移至 1.5ml 离心管中，把产物保存于-20~8℃。

MagMix 32/MagMix 48 仪器的参数

| 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  | 60   | 0  | 0  | 自动 | /  | /  |
| 2  | 结合   | 1  | 750 | 300s | 7  | 0  | 0  | 90   | 0  | 0  | 自动 | /  | /  |
| 3  | 清洗1  | 2  | 600 | 90s  | 8  | 0  | 0  | 60   | 0  | 0  | 自动 | /  | /  |
| 4  | 清洗2  | 3  | 600 | 90s  | 8  | 0  | 0  | 60   | 0  | 0  | 自动 | /  | /  |
| 5  | 清洗3  | 4  | 600 | 60s  | 8  | 0  | 0  | 60   | 0  | 0  | 自动 | /  | /  |
| 6  | 清洗4  | 5  | 600 | 0    | 8  | 0  | 0  | 60   | 0  | 0  | 自动 | /  | /  |
| 7  | 洗脱1  | 6  | 100 | 180s | 8  | 0  | 0  | 0    | 0  | 0  | 自动 | 6  | 55 |
| 8  | 洗脱2  | 6  | 100 | 420s | 6  | 0  | 0  | 90   | 0  | 40 | 自动 | 6  | 55 |
| 9  | 弃磁   | 3  | 500 | 30s  | 8  | 0  | 0  | 0    | 0  | 0  | 自动 | /  | /  |