

## MagPure Bacterial HW DNA Kit

### 磁珠法细菌 HW DNA 试剂盒

本产品为细菌类样品的高分子量 DNA 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	D6383-01	D6383-02	D6383-03
纯化次数	48 次	96 次	5 × 96 次
Lysozyme	90 mg	180 mg	800 mg
Protease Dissolve Buffer	1.8 ml	10 ml	20 ml
RNase Solution	0.6 ml	1.1 ml	6 ml
Proteinase K Solution	1.5 ml	3.0 ml	15 ml
MagPure Particle G2	1.5 ml	3.0 ml	15 ml
Buffer P1	30 ml	60 ml	350 ml
Buffer SDS	1.8 ml	5 ml	20 ml
Buffer CXP	30 ml	50 ml	270 ml
Buffer GW1 *	44 ml	110 ml	2 × 220 ml
Buffer GW2 *	20 ml	50 ml	2 × 100 ml
Buffer BW3	50 ml	90 ml	400 ml
Elution Buffer	10 ml	30 ml	120 ml

### 保存条件

本产品室温运输，长期保存时，把 Lysozyme、Proteinase K Solution、RNase Solution 和 MagPure Particle G2 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	D6383-TL-06	D6383-S-48
	RNase Solution	1.1 ml	0.6 ml
	Proteinase K Solution	3.0 ml	1.5 ml
	Buffer SDS	5 ml	1.8 ml
	Buffer P1	60 ml	30 ml
	Lysozyme	180 mg	90 mg
	Protease Dissolve Buffer	5 ml	1.8 ml
	TL-Tip	12 个	24 个
尖底板 试剂条	1/7孔: 400µl Buffer CXP	6 块	48 条
	2/8孔: 600µl Buffer GW1		
	3/9孔: 600µl Buffer GW1		
	4/10孔: 600µl Buffer GW2 25µl MagPure Particle G2		
	5/11孔: 600µl Buffer BW3		
	6/12孔: 120µl Elution Buffer		

## 保存条件

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

## 准备事项

- Buffer GW1/GW2 使用前，须按瓶子标签所示，加入无水乙醇进行稀释。
- 加入适量的 Proteinase Dissolve Buffer 至溶菌酶中至终浓度为 50mg/ml，颠倒混匀使之充分溶解，保存于 2~8°C(3 个月) 或 -20°C (长期)。

## 第一部分. 样品裂解

### 1. 样品进行前处理:

- **发酵液或培养液 (阴性细菌):** 转移 1.0~2.0ml 细菌培养液或发酵液(<math>2 \times 10^9</math> 个细菌)至 2.0ml 离心管中, 5,000 x g 离心 10 分钟收集细菌, 倒弃培养液。加入 500µl Buffer P1 涡旋重悬细菌, 加入 25µl Buffer SDS 和 25µl Proteinase K Solution, 涡旋混匀, 65 度温育 20 分钟。

- **发酵液或培养液（阳性细菌）：**转移 1.0~2.0ml 细菌培养液或发酵液(<math>2 \times 10^9</math> 个细菌)至 2.0ml 离心管中，5,000 x g 离心 10 分钟收集细菌，倒弃培养液。加入 500 $\mu$ l Buffer P1 和 30 $\mu$ l Lysozyme，37 度 900rpm 振荡温育 30~120 分钟，加入 25 $\mu$ l Buffer SDS 和 25 $\mu$ l Proteinase K Solution，65 度温育 20 分钟。
  - **组织类样品：**取 50~200mg 组织样品，用生理盐水或 PBS 进行充分匀浆，500 x g 离心 10 分钟去除体细胞，转移上清液至新的离心管中，5,000 x g 离心 10 分钟收集细菌，倒弃培养液。加入 500 $\mu$ l Buffer P1 和 30 $\mu$ l Lysozyme，37 度 900rpm 振荡温育 30~120 分钟。加入 25 $\mu$ l Buffer SDS 和 25 $\mu$ l Proteinase K Solution，65 度温育 20 分钟。
  - **分泌物、浸泡液、体液类等：**取 1.0-2.0ml 分泌物、痰液液化液，血清、血浆、血水、拭子浸泡液或体液样品至 2.0ml 离心管中，13,000 x g 离心 3 分钟收集细菌，倒弃上清液。加入 500 $\mu$ l Buffer P1 和 30 $\mu$ l Lysozyme，37 度 900rpm 振荡温育 30~120 分钟。加入 25 $\mu$ l Buffer SDS 和 25 $\mu$ l Proteinase K Solution，65 度温育 20 分钟。
  - **干拭子样品：**转移拭子至 2ml 离心管中，加入 500 $\mu$ l Buffer P1 和 30 $\mu$ l Lysozyme，37 度 900rpm 振荡温育 30~120 分钟。加入 25 $\mu$ l Buffer SDS 和 25 $\mu$ l Proteinase K Solution，65 度温育 20 分钟。
  - **难裂解细菌（珠磨）：**转移 1.0~2.0ml 细菌培养液或发酵液(<math>2 \times 10^9</math> 个细菌)至 2.0ml 离心管中，5,000 x g 离心 10 分钟收集细菌，倒弃培养液。加入 550 $\mu$ l Buffer P1 和 300~500mg 酸性玻璃粉(0.1~0.2mm，另外订购)，最高速度涡旋 5~10 分钟或珠磨仪珠磨 90~150 秒。静置 2 分钟后，转移 500 $\mu$ l 上清液至新的离心管中，加入 25 $\mu$ l Buffer SDS 和 25 $\mu$ l Proteinase K Solution，65 度温育 20 分钟。
2. 加入 10 $\mu$ l RNase Solution 至样品混匀，放置 10~20 分钟。
  3. 13,000 x g 离心 3 分钟,按第二/三部分进行操作。

## 第二部分：单管操作

1. 转移 500 $\mu$ l 消化液（第一部分第 3 步）至 1.5ml 离心管中。
2. 加入 400 $\mu$ l Buffer CXP，颠倒混匀 10 次，50 $^{\circ}$ C 温育 3~5 分钟让沉淀完全溶解。
3. 加入 25 $\mu$ l MagPure Particle G2，颠倒混匀 10~15 次，室温静置 3 分钟，其间颠倒混匀数次。磁力架静置 1~2 分钟，倒弃或吸弃溶液，瞬离后再吸弃残液。
4. 加入 750 $\mu$ l Buffer GW1，涡旋混匀 10 秒，磁力架上静置 1 分钟，倒弃或吸弃溶液，瞬离后再吸弃残液，重复这一步一次。
5. 加入 750 $\mu$ l Buffer GW2，涡旋混匀 10 秒，磁力架上静置 1 分钟，倒弃或吸弃溶液，瞬离

后再吸弃残液，重复这一步一次。

6. 不要从磁力架上取下离心管中，缓慢加入 750µl Buffer BW3，不要打散磁珠，静置 60 秒，小心吸弃溶液。
7. 加入 80~100µl Elution Buffer 至样品中，轻轻拍打让磁珠从壁上脱落并重悬在 Elution Buffer 中，55°C, 600~800rpm 振荡温育 10 分钟让 DNA 充分溶解。
8. 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. 转移 500µl 消化液至第 1/7 排孔中。
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。
5. 取出 96 孔板和磁力外套，把 DNA 转移至 1.5ml 离心管中，把产物保存于-20~8°C。

#### 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	混匀	1	900	120s	6	0	0	0	0	0	自动	1	50
2	清洗	2	750	10s	8	0	0	0	0	0	自动	1	50
3	吸磁	4	750	20s	8	0	0	90s	0	0	自动	1	50
4	结合	1	900	250s	7	0	0	120s	0	0	自动	/	/
5	清洗1	2	750	60s	8	0	0	90s	0	0	自动	/	/
6	清洗2	3	750	60s	8	0	0	90s	0	0	自动	/	/
7	清洗3	4	750	60s	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
8	清洗4	5	750	0	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
9	洗脱1	6	100	180s	7	0	0	0	0	0	自动	6	55
10	洗脱2	6	100	300s	6	0	0	90s	0	40	自动	6	55
11	弃磁	3	500	30s	8	0	0	0	0	0	自动	/	/