

## MagPure Mycobacterium DNA Kit

### 磁珠法结核杆菌 DNA 提取试剂盒

本产品为细菌或结核杆菌 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。细菌在高温下作用下裂解消化，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	D6362-01	D6362-02	D6362-03
纯化次数	48 次	96 次	5 x 96 次
Glass Beads Mixture	20 g	40 g	180 g
MagPure Particles N	1.2 ml	3 ml	16 ml
Buffer TL	30 ml	60 ml	270 ml
Buffer MLBN	30 ml	60 ml	270 ml
Buffer DTT	0.5 g	1 g	5 g
Buffer BW1 *	13 ml	26 ml	132 ml
Elution Buffer	5 ml	10 ml	60 ml

#### 保存条件

本产品室温运输和保存，收到产品把 MagPure Particles N 和 Buffer DTT 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, 版本, 尖底板

货号	预分装试剂和装量	D6362-TL-06 96 人份	D6362-S-48 48 人份
Glass Beads Mixture		40 g	20 g
Buffer DTT		1g	0.5 g
Buffer TL		60 ml	30 ml
8联磁力外套		12 个	24 个
预装试剂板	第 1/7 排孔: 500 $\mu$ l Buffer MLBN	6 块	48 条
	第 2/8 排孔: 500 $\mu$ l Buffer MW2 20 $\mu$ l MagPure Particles N		
	第 3/9 排孔: 500 $\mu$ l Buffer NW1		
	第 4/10 排孔: 500 $\mu$ l Buffer MW2		
	第 5/11 排孔: 500 $\mu$ l Buffer MW2		
	第 6/12 排孔: 80 $\mu$ l Elution Buffer		

## 保存条件

本产品室温运输和保存, 收到产品把 Buffer DTT 保存于 2-8 $^{\circ}$ C, 其余产品保存于室温, 有效期 18 个月。

## 需要准备材料

- 75%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 N 初次使用时, 必须剧烈摇晃 1-2 分钟让磁珠充分分散。
- 用灭菌水配制成 1M DTT, 保存于-20 $^{\circ}$ C。实验前, 用灭菌水配制 0.1% DTT。

## 第一部分：实验步骤

### 1. 样品前处理

- **痰液样品(NaOH 液化处理):** 在痰液样品中, 加入 1~3 倍体积的 4% NaOH 溶液进行液化痰液, 完全液化后, 取适量的液化液于 5000 x g 离心 10 分钟富集细菌, 倒弃废液, 加入 500µl Buffer TL 重悬沉淀。
  - **痰液样品(DTT 温和液化):** 在痰液样品中, 加入 1~2 倍体积的 0.1% DTT 进行进行痰液液体。完全液化后, 离心收集沉淀后重悬或取 300 液化液至新的离心管中, 然后 200µl Buffer TL 重悬沉淀。
  - **液体样品:** 用适量冲洗液或培养液至离心管中, 于 5,000 x g 离心 10 分钟收集细菌, 倒弃废液, 加入 500µl Buffer TL 重悬沉淀。
  - **组织样品:** 取 300µl 组织匀浆液, 加入 200µl Buffer TL 颠倒混匀。
  - **少量液体样品:** 取 300µl 液体样品, 加入 200µl Buffer TL 颠倒混匀。
2. 根据实验条件, 选择裂解方式。
    - 90°C 温育 20 分钟。
    - 加入 0.3~0.5g 玻璃珠至样品中, 涡旋 10 分钟进行裂解细菌。
  3. 13000 x g 离心 3 分钟。

## 第二部分：单管操作

1. 转移 250~300µl 上清液至新的离心管, 加入 20µl MagPure Particles N 和 500µl Buffer MLBN。颠倒混匀 10-15 次, 室温放置 5 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。
2. **加入 500µl 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。
3. **加入 750µl 75%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。
4. 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 5 分钟。
5. **加入 50µl Elution Buffer,** 涡旋打散磁珠。55°C 振荡温育 10 分钟。若无振荡温匀, 其间涡旋混匀 2~3 次加速 DNA 的溶解。
6. 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 250~300 $\mu$ l 上清液（第一部分第 3 步）。
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 20 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	2	500	30s	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
2	结合	1	800	250s	8	0	0	90s	30	30	自动	/	/
3	清洗1	3	500	60s	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
4	清洗2	4	500	60s	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
5	清洗2	5	500	60s	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
6	干燥	5	0	0	0	2min/晾干		0	0	0	自动	/	/
7	洗脱	6	100	240s	9	0	0	60s	0	0	自动	6	55
8	弃磁1	2	500	30s	9	0		0	0	0	自动	/	/