

MagPure Yeast DNA Kit

磁珠法结核杆菌 DNA 提取试剂盒

本产品为酵母和寄生真菌 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	D6363-01	D6363-02	D6363-03
纯化次数	48 次	96 次	5 x 96 次
氧化锆珠(0.6-0.8mm)	20 g	40 g	180 g
Proteinase K Solution	0.6 ml	1.2 ml	5.5 ml
RNase Solution	0.6 ml	1.2 ml	5.5 ml
Lyticase Mixture	1.8 ml	2 x 1.8 ml	16 ml
Buffer DTT	235 mg	235 mg	2 x 235mg
MagPure Particles	1.2 ml	3 ml	16 ml
Buffer SDS	3 ml	6 ml	30 ml
Buffer P1	20 ml	40 ml	200 ml
Buffer MLA	33 ml	70 ml	300 ml
Buffer MWX1	33 ml	70 ml	300 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 Proteinase K Solution, RNase Solution, Lyticase Mixture 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	D6363-TL-06 96 人份	D6363-S-48 48 人份
Glass Beads Mixture (0.6-0.8mm)		60 g	30 g
Proteinase K Solution		1.2 ml	0.6 ml
RNase Solution		1.2 ml	0.6 ml
Lyticase Mixture		2 x 1.8 ml	1.8 ml
Buffer DTT		235 mg	235 mg
Buffer SDS		6 ml	3 ml
Buffer P1		40 ml	20 ml
8 联磁力外套		12 个	24 个
预装试剂板	第1/7排孔: 600µl Buffer MLA	6 块	48 条
	第2/8排孔: 600µl Buffer MWX1		
	第3/9排孔: 600µl Buffer EW, 30µl MagPure Particles		
	第4/10排孔: 600µl Buffer EW		
	第6/12排孔: 100µl Elution Buffer		

产品组份: 预分装试剂, 版本, 尖底板

货号	预分装试剂和装量	D6363-F-96 96 人份	D6363-F-48 48 人份
Proteinase K Solution		1.2 ml	0.6 ml
RNase Solution		1.2 ml	0.6 ml
Lyticase Mixture		2 x 1.8 ml	1.8 ml
Buffer DTT		235 mg	235 mg
Buffer P1		40 ml	20 ml
Buffer SDS		6 ml	3 ml
96-Tip		1 个	1 个
样品板 1	600µl Buffer MLA	1 个	1 个
清洗板 1	600µl Buffer MWX1	1 个	1 个
清洗板 2	600µl Buffer EW, 30µl 磁珠MP	1 个	1 个
清洗板 3	600µl Buffer EW	1 个	1 个
洗脱板	100µl Elution Buffer	1 个	1 个

保存条件

本产品室温运输和保存, 收到产品把 Proteinase K Solution, RNase Solution, Lyticase Mixture 和 Buffer DTT 保存于 2-8℃, 其余产品保存于室温, 有效期 18 个月。

第一部分：实验步骤

● 酶法

- **配制 DTT:** 加入 1.5ml 灭菌水至 DTT Powder 中，颠倒混匀，待用或保存于-20°C.
 - **配制 Buffer SE Plus 混和液 (1 份样品):** 260µl Buffer P1, 6µl DTT, 10µl RNase A 和 30µl Lyticase Mixture, 实验前，可以按该比例配制混合液。
1. 取 0.5~1.5ml 酵母培养液（不要超过 5×10^7 ）、体液、浸泡液等液体样品至 2ml 离心管中，10,000 x g 离心 1 分钟收集酵母或真菌细胞，小心吸弃液体。
96 孔板培养：4000-5000 xg 离心 10 分钟收集酵母细胞。
 2. **加入 300µl Buffer SE Plus 至样品中，涡旋重悬菌体，37°C 振荡温育 30~60 分钟。**
快速操作：温育后直接转移 300µl 消化液，按第三部分上机操作。由于该简化流程没有去除细胞碎片，洗脱产物可能是浑浊的，于 10,000 x g 离心 1-2 分钟去除细胞碎片。
 3. **加入 20µl Buffer SDS 至消化液中，65°C 振荡温育 15 分钟消化酵母细胞。**室温下，10,000 x g 离心 1 分钟去除细胞碎片，待用。
96 孔板培养：4000-5000 xg 离心 10 分钟收集酵母细胞。

● 珠磨法

1. 在 2ml 离心管中，加入 0.5g 氧化锆珠(0.6-0.8mm)和 40µl Buffer SDS。
2. 加入 0.4ml 培养液、浓缩液、体液、血清、血浆、匀浆液、发酵液或拭子浸泡液等样品，加入 10µl Proteinase K，颠倒混匀数次。转移至涡旋仪上高速涡旋 10~15 分钟。
这一步也可以在珠磨仪器进行高速快速珠磨。
3. 65°C 温育 20 分钟进一步裂解细胞。
4. （可选）加入 10µl RNase Solution 至样品中，混匀。室温放置 10 分钟消化 RNA。
5. 10,000 x g 离心 1 分钟去除未消化杂质，转移 300µl 上清液至新的离心管。

第二部分：单管操作

1. 转移 300µl 上清液至新的离心管，加入 30µl MagPure Particles 和 600µl Buffer MLA。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 1 分钟，倒弃或吸弃溶液。
2. **加入 600µl Buffer MWX1，涡旋 10 秒。**转移至磁力架上吸附 1 分钟，倒弃或吸弃溶液。

- 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。
- 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。
- 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。
- 加入 50~100µl Elution Buffer，涡旋打散磁珠。55°C 振荡温育 10 分钟。若无振荡温育，其间涡旋混匀 2~3 次加速 DNA 的溶解。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

- 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。
- 在第 1/7 排孔中，加入 300µl 消化液和 10µl Proteinase K Solution。
若消化时已经加入 Proteinase K，这一步不需要添加。
- 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)。
- 编写程序，并启动对应程序。约 20 分钟，提取结束。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 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	3	600	30s	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
2	结合	1	900	400s	8	0	0	90s	30	30	自动	/	/
3	清洗1	2	600	120s	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
4	清洗2	3	600	60s	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
5	清洗2	4	600	60s	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
6	干燥	5	0	0	0	5min/晾干		0	0	0	自动	/	/
7	洗脱	6	100	400s	9	0	0	60s	0	0	自动	6	55
8	弃磁1	4	600	30s	9	0		0	0	0	自动	/	/