

M5 Hiper Magbead Bacterial DNA Kit

磁珠法细菌基因组 DNA 提取试剂盒

使用说明书

产品名称	单位	货号
M5 Hiper Magbead Bacterial DNA Kit	96T	MF1211-01

【储存条件】 室温保存，有效期 12 个月。可在 4-37°C 运输，运输时间建议不超过 7 天。**切勿冷冻！**

【产品简介】

该试剂盒提供了一种简单、高效的细菌 DNA 提取方案。细菌细胞经化学方法破碎后，裂解产物中的 DNA 在高盐存在时结合于硅基包被的磁珠表面。漂洗后，DNA 被洗脱于 Buffer EB 或去离子水中。提取得率与样品类型以及细菌破碎效果有很大关系，提取得到的 DNA 可用于二代测序、PCR 检验等下游实验。

【产品组份】

Buffer ATL	25 ml
Buffer AL	30 ml
Proteinase K	2 × 1 ml
Buffer GW1 (concentrate)	52 ml
Buffer GW2 (Concentrate)	60 ml
Buffer EB	15 ml
Magbeads PN	2 × 1 ml

【适合样本】 细菌样本



【注意事项】

- 第一次实验前按照试剂瓶标签上的说明向 Buffer GW1 和 Buffer GW2 中加入指定用量的无水乙醇；
- Magbeads PN **严禁冰冻、高速离心**。冰冻、高速离心可能会对 Magbeads 造成不可逆的损害。

【自备仪器和试剂】

1. 手动单管提取：

- 1) 恒温混匀仪
- 2) 2/15 ml 磁力架

无水乙醇、异丙醇

【操作步骤】

实验前准备：使用前请将所有试剂颠倒混匀 3-5 次。磁珠悬浮液使用前需在涡旋混匀仪上充分重悬，或充分颠倒混匀，在一次性加样 32-48 次后，建议再次混匀后再继续加样。

1. 取 0.5~2ml 过夜培养的菌液，室温 10,000 rpm 离心 1min，弃上清。
2. 加入 200 μ L Buffer ATL，用枪头充分吹打或用涡旋振荡器充分悬浮。
(注意：对于较难破壁的革兰氏阳性菌，可略过第 2 步骤，加入溶菌酶进行破壁处理，具体方法为：加入 180 u1 终浓度为 20 mg/ml 的溶菌酶缓冲液(20mM Tris, pH 8.0; 2mM Na₂-EDTA; 1.2% Triton X-100; 溶菌酶必须用溶菌酶干粉溶解在缓冲液中进行配制，否则会导致溶菌酶无活性)，37 $^{\circ}$ C处理 30min 以上。如要去除 RNA，可加入浓度为 100mg/ml 的 RNaseA4 μ L，室温处理 5min)
3. 加入 300 μ L 裂解液 AL 和 20ul Proteinase K 溶液，震荡至菌体彻底悬浮，56 $^{\circ}$ C放置 10min 以上至菌体变澄清。
4. 加入 300 μ L 异丙醇和 20 μ L 磁珠悬浮液，震荡混匀 1min，静置 3min，再震荡 1min。
5. 将离心管置于磁力架上静置 30s，磁珠完全吸附后，吸去液体。
6. 将离心管从磁力架上取下，加入 500 μ L 缓冲液 Buffer GW1，震荡混匀 1min。
(注意：Buffer GW1 在使用前按要求加入无水乙醇，用后应立即盖紧瓶盖，以防乙醇挥发)
7. 将离心管置于磁力架上静置 30s，磁珠完全吸附后，吸去液体。
8. 将离心管从磁力架上取下，加入 600 μ L 缓冲液 Buffer GW2，旋涡充分混匀 1min。
(注意：Buffer GW2 在使用前按要求加入无水乙醇，用后应立即盖紧瓶盖，以防乙醇挥发)
9. 将离心管置于磁力架上静置 30s，磁珠完全吸附后，吸去液体。
10. 重复步骤 8 和 9 一次。
11. 将离心管置于磁力架上，开盖室温放置 5min。
(注意：乙醇残留会抑制后续的酶反应，所以晾干时要确保乙醇挥发干净。但也不要干燥过度，以免 DNA 难以洗脱)
12. 将离心管从磁力架上取下，加入 50~100 μ L Buffer EB，充分震荡 2min。
13. 将离心管置于磁力架上静置 2min，磁珠完全吸附后，小心将溶液转移至新的离心管中，并于适当条件保存。
(注意：为增加洗脱效率，可将洗脱液在 60 $^{\circ}$ C预热。如需使用去离子水洗脱，可用 NaOH 调整其 pH 值在 7.0 - 8.5 之间)

【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。