

Bacterial DNA Extraction CZ Kit B

磁珠法细菌 DNA 提取试剂盒 B

本产品适合于从细菌等样品中提取 DNA。试剂盒基于超顺磁性的磁珠纯化技术，在提取过程中根据磁珠特定条件下与核酸超高的亲和力以及条件改变时释放核酸的特性，达到快速分离纯化核酸的效果。快速分离纯化过程中无需使用有毒的酚氯仿抽提，也无需进行耗时的醇类沉淀，整个提取过程只需 40~60 分钟，尤其适用于高通量的工作站等核酸自动化提取设备。得到的 DNA 可直接用于 PCR，荧光定量，微生物检测等实验。

产品组份

产品编号	DNB671-01B (50T)	DNB671-02B (100T)
Buffer STE	15 ml	30 ml
Buffer MZT	30 ml	60 ml
Buffer W1A	22 ml	44 ml
Buffer W2A	15 ml	30 ml
Buffer EB	10 ml	20 ml
Proteinase K	1.1 ml	2×1.1 ml
RNase Solution	550 µl	1.1 ml
MagExtract Suspension	1.1 ml	2×1.1 ml
Lysozyme	100 mg	200 mg
Lysozyme Buffer	4 ml	8 ml

保存条件

除 Lysozyme 外，试剂盒可在常温保存，Lysozyme 室温运输，收到后放于-20 度保存。

准备事项

- 自动化核酸提取仪或磁力架

[检验方法]

菌液样品

1. 取 1-2ml 菌液样品，10,000rpm 离心 1 分钟，弃上清，保留沉淀。
2. 加入 200 μ l Buffer STE 及 30 μ l Lysozyme（已溶解）至沉淀中，高速涡旋重悬细菌沉淀，37 $^{\circ}$ C处理 30~60min。之后按纯化操作进行。

处理葡萄球菌属细菌时，加入 1 μ l Lysostaphin (20mg/ml)。若需去除 RNA，同时加入 10 μ l RNase Solution 至样品中，混匀。

痰液样品

1. 吸取 0.5-1ml 痰液样品，加入 1ml 1M NaOH，充分混匀使痰液液化，12,000rpm 离心 10 分钟，弃上清。
2. 加入 1ml PBS 至离心管中，混匀后 12,000rpm 离心 10 分钟，弃上清，保留沉淀。
3. 加入 200 μ l Buffer STE 及 30 μ l Lysozyme（已溶解）至沉淀中，高速涡旋重悬细菌沉淀，37 $^{\circ}$ C处理 30~60min。之后按纯化操作进行。

若需去除 RNA，同时加入 10 μ l RNase Solution 至样品中，混匀。

液体样品

1. 吸取适量样品，7,500rpm 离心 10 分钟，弃上清，保留沉淀。
2. 加入 200 μ l Buffer STE 及 30 μ l Lysozyme（已溶解）至沉淀中，高速涡旋重悬细菌沉淀，37 $^{\circ}$ C处理 30~60min。之后按纯化操作进行

若需去除 RNA，同时加入 10 μ l RNase Solution 至样品中，混匀。

组织样品

1. 取 50~100mg 样品，加入 800 μ l Buffer PBS（自备），用匀浆器进行充分匀浆，静置 10 分钟后，取 0.5ml 上清，10,000 x g 离心 3 分钟收集细菌，倒弃上清，保留沉淀
2. 加入 200 μ l Buffer STE 及 30 μ l Lysozyme（已溶解）至沉淀中，高速涡旋重悬细菌沉淀，37 $^{\circ}$ C处理 30~60min。之后按纯化操作进行。

若需去除 RNA，同时加入 10 μ l RNase Solution 至样品中，混匀。

纯化操作

1. 加入 20 μ l Proteinase K 、20 μ l MagExtract Suspension 和 500 μ l Buffer MZT 至消化液中，充分颠倒涡旋混匀，55 $^{\circ}$ C振荡温浴 15 分钟，期间颠倒混匀数次。
2. 将离心管放置于磁力架静置 30 秒，磁珠完全吸附后，小心吸弃液体。
3. 将离心管从磁力架取下，加入 600 μ l Buffer W1A，涡旋混匀 1 分钟。
4. 将离心管放置于磁力架静置 30 秒，磁珠完全吸附后，小心吸弃液体。
5. 将离心管从磁力架取下，加入 600 μ l Buffer W2A，涡旋混匀 1 分钟。
6. 将离心管放置于磁力架静置 30 秒，磁珠完全吸附后，小心吸弃液体。
7. 重复 6~7 步一次。
8. 短暂离心，将离心管放置于磁力架上静置 20 秒，吸尽残液，打开管盖，空气干燥 15 分钟。
9. 将离心管取下，加入 50~100 μ l Buffer EB，涡旋混匀，55 $^{\circ}$ C振荡温浴 10~15 分钟，若无振荡温浴，期间涡旋混匀 3~4 次。
10. 将离心管放于磁力架上，静置吸磁 2 分钟，转移 DNA 溶液至新的离心管保存于-80 $^{\circ}$ C。

常见问题

1. DNA 产量低

- 样品前处理过程按说明书所示不同样品分别进行处理。
- 磁珠未充分打散导致磁珠量较少，结合力下降。

2. 下游结果不理想

- 裂解后若有明显菌体沉淀，应离心取上清进行操作。转移上清时注意尽可能避免吸入沉淀，避免 DNA 纯度下降。
- 洗脱不充分：可将洗脱液预热至 60°C 后再进行洗脱，提高洗脱效率。

3. 纯度低

- 洗涤不充分：必要时可进行两次 W1A 洗涤，充分洗去杂质。
- 转移上清时注意尽可能避免吸入沉淀。