6. 振荡孵育 5 min。
7. 把离心管转移到磁力架上再室温静置 2 分钟，至溶液澄清。用移液枪小心吸弃上清，不要碰触磁珠。
8. 加入 600 µL Buffer AW1 (使用前检查是否已加入无水乙醇) 至离心管中，用移液枪或涡旋仪充分混匀。然后把离心管转移到磁力架上再室温静置 2 分钟，至溶液澄清。用移液枪小心吸弃上清，不要碰触磁珠。
9. 加入 600 µL Buffer AW2 (使用前检查是否已加入无水乙醇) 至离心管中，用移液枪或涡旋仪充分混匀。然后把离心管转移到磁力架上再室温静置 2 分钟，至溶液澄清。用移液枪小心吸弃上清，不要碰触磁珠。
10. 重复第 9 步洗涤一次。
11. 保持样品始终处于磁力架上，室温下开盖干燥磁珠约 10 - 20 min。
12. 加入 50-100 µL Buffer AE 至离心管中，用移液枪或涡旋仪充分混匀。于 55 °C 烘箱中放置 4 分钟，然后把离心管转移到磁力架上再室温静置 2 分钟，至溶液澄清。用移液枪小心吸取上清，并转移到新的离心管中。
13. 把 DNA 保存于-20°C。

常 见 问 题

1. DNA 产量低

- 洗脱不充分**:** 增加洗脱体积或次数。

2. DNA 纯度不达标

- Proteinase K 活性下降**:** 重新制备Proteinase K。使用后Proteinase K 立即保存于-20 °C。
- 加入Buffer DL 后混匀不充分：重新提取，加入Buffer AL 后立即颠倒混匀3-5 次，然后以最高速度涡旋让样品与Buffer AL 充分混匀。

3. RNA 污染

- 延长 RNase 消化时间。

EasyMag DNA Purification Kit from bacteria
细菌 DNA 提取试剂盒

（磁珠法）

产品概述

EasyMag DNA Purification Kit from bacteria采用可特异性结合核酸的磁珠和独特的缓冲液系统，适用于从各种细菌样品中高效提取DNA 。整个过程无需酚氯仿抽提，也无需耗时的醇类沉淀。纯化的DNA可直接用于PCR，酶切，Southern 杂交等。

产品特点

- 高纯度 DNA - 得到的 DNA 可直接用于各种下游应用；
- 快速 - 简化的流程，可在 20 分钟内完成数个样品的提取工作(消化后)；
- 广谱性 - 可处理各种细菌，包括难裂解的革兰氏阳性细菌；
- 安全 - 无需酚氯仿抽提，无需醇类沉淀。

适用范围

从细菌培养液中提取细菌 DNA。

ABP Biosciences Inc
安迪福诺生物科技（武汉）有限公司
地址：武汉市东湖新技术开发区高新大道666号
光谷生物城生物创新园C2-4栋五楼
电话： 400-066-7718 邮箱： info@abpbio.com
网址： www.abpbio.com www.abpbio.com.cn

试剂盒组分

Kit Component	D120-1 (50 preps)	D120-2 (200 preps)
Buffer ATL	15 mL	60 mL
Buffer DL	15 mL	60 mL
Buffer AW1*	15 mL	60 mL
Buffer AW2*	15 mL	50 mL
Buffer AE	15 mL	50 mL
Proteinase K (20 mg/mL)	1.1 mL	4.4 mL
Lysozyme	100 mg	400 mg
MagBinding Beads	2.5 mL	10 mL

***** Buffer AW1, Buffer AW2 使用前须按瓶子标签所示，加入无水乙醇进行稀释。

保存条件

本试剂盒除 Proteinase K, Lysozyme 和 MagBinding Beads 外，可在室温保存 12 个月。Proteinase K, Lysozyme 和 MagBinding Beads 室温运输， 收到试剂盒后 Proteinase K 和 Lysozyme 请保存于-20 °C，MagBinding Beads 保存于 2-8 °C。Buffer ATL 和 Buffer DL 放置时可能会有沉淀出来，使用时须加热至 55 °C 使沉淀消失。

实验准备

在使用之前，请仔细阅读本说明书，以便熟悉每一步的操作。

1. 按瓶子标签所示，加入适量的无水乙醇至 Buffer AW1, Buffer AW2 中，于室温保存。
2. 准备无核酸和核酸酶污染的 Tip 头、 离心管。
3. 准备 10 mg/mL 的 RNase A。
4. 准备 Lysozyme 裂解液：20 mM Tris-HCl (pH 8.0), 2 mM EDTA, 1.2% Triton X-100, 加 Lysozyme 至终浓度 20 mg/mL，于 2-8 °C 保存。
5. 所有离心均在室温下进行。

实验步骤

方案 1. 革兰氏阴性细菌 DNA 抽提

1. 转移0.5-1 mL 细菌培养液(<1.5 x 10^9 个细菌)至1.5 mL 离心管中。10,000 x g 离心1 分钟收集细菌，倒弃培养液。
2. 加入230 µL Buffer ATL 和 20 µL Proteinase K，涡旋混匀。65°C温浴30 分钟，期间需颠倒混匀几次或振荡温浴。
3. (可选) 如果需要去除RNA，可加入20 µL RNase A（10 mg/mL）溶液（客户自备），颠倒混匀，室温或 37°C放置 15 分钟。
4. 加入 250 µL Buffer DL 至消化液中，最高速度涡旋 20 秒。65℃水浴 10 分钟。
5. 加入 250 µL 异丙醇和 50 µL MagBinding Beads 至消化液中，涡旋混匀 15~20 秒。Note: 加入异丙醇时如有沉淀形成，用移液枪吸打 5~10 次打散沉淀。
6. 振荡孵育 5 min。
7. 把离心管转移到磁力架上再室温静置 2 分钟，至溶液澄清。用移液枪小心吸弃上清，不要碰触磁珠。
8. 加入 600 µL Buffer AW1 (使用前检查是否已加入无水乙醇) 至离心管中，用移液枪或涡旋仪充分混匀。然后把离心管转移到磁力架上再室温静置 2 分钟，至溶液澄清。用移液枪小心吸弃上清，不要碰触磁珠。
9. 加入 600 µL Buffer AW2 (使用前检查是否已加入无水乙醇) 至离心管中，用移液枪或涡旋仪充分混匀。然后把离心管转移到磁力架上再室温静置 2 分钟，至溶液澄清。用移液枪小心吸弃上清，不要碰触磁珠。
10. 重复第 9 步洗涤一次。
11. 保持样品始终处于磁力架上，室温下开盖干燥磁珠约 10 - 20 min。
12. 加入 50-100 µL Buffer AE 至离心管中，用移液枪或涡旋仪充分混匀。于 55 °C 烘箱中放置 4 分钟，然后把离心管转移到磁力架上再室温静置 2 分钟，至溶液澄清。用移液枪小心吸取上清，并转移到新的离心管中。
13. 把 DNA 保存于-20°C。

方案 2. 革兰氏阳性细菌 DNA 抽提

1. 转移0.5-1 mL 细菌培养液(<1.5 x 10^9 个细菌)至1.5 mL 离心管中。10,000 x g 离心1 分钟收集细菌，倒弃培养液。
2. 加入150 µL Lysozyme裂解液，涡旋混匀。37°C温浴30 分钟，期间需颠倒混匀几次或振荡温浴。
3. 加入 20 µL Proteinase K 和 250 µL Buffer DL 至消化液中，最高速度涡旋 20 秒。65℃水浴 30 分钟。
4. (可选) 如果需要去除RNA，可加入20 µL RNase A（10 mg/mL）溶液（客户自备），颠倒混匀，室温或 37°C放置 15 分钟。
5. 加入 250 µL 异丙醇和 50 µL MagBinding Beads 至消化液中，涡旋混匀 15~20 秒。Note: 加入异丙醇时如有沉淀形成，用移液枪吸打 5~10 次打散沉淀。