



## 病原微生物DNA/RNA提取试剂盒(磁珠法) (BW-MGD2411)

本试剂盒用于病原微生物DNA/RNA的提取纯化，可从多种类型样本中纯化细菌、真菌及病毒DNA/RNA，诸如血液、血清、血浆、尿液、脑脊液、痰液、肺泡灌洗液等样本。纯化后的DNA/RNA可用于下游实验，如PCR、qPCR等实验。

### 试剂盒组分

Catalog#	BW-MGD2411-A00	BW-MGD2411-A32-32		BW-MGD2411-A32		BW-MGD2411-A96		BW-MGD2411-A24	
	Manual operation	Well position	Well position	Well position	Plate position	Plate position	Plate position	Plate position	Plate position
Preps	50 T	1Tx32		1x32T		1x96T		1x24T	
Lysis Buffer A	50mL	Well 1	600 μL	Column 1/7	600 μL	Plate 2	600 μL	Plate 2	2.25mL
MgPure Beads	1.25mL	Well 2	400 μL	Column 2/8	400 μL	Plate 3	400 μL	Plate 3	1mL
Wash Buffer 1	50mL	Well 3	600 μL	Column 3/9	600 μL	Plate 4	600 μL	Plate 4	1mL
Wash Buffer 2	100mL	Well 4	800 μL	Column 4/10	800 μL	Plate 5	800 μL	Plate 5	1mL
Wash Buffer 3	-	Well 5	800ul	Column 5/11	800ul	Plate 6	800μL	Plate 6	1mL
DEPC-Treated ddH2O	10mL	Well 6	80 μL	Column 6/12	80 μL	Plate 8	80 μL	Plate 8	200μL
Proteinase K	1.25mL	800 uL		800 uL		2x1.25mL		2.5mL	
Tip Comb	-		8		4		1		1

\*BW-MGD2411-A32 and BW-MGD2411-A32-32 用八联孔磁棒套, BW-MGD2411-A96 用96孔磁棒套, BW-MGD2411-A24用24孔磁棒套.

### 存储与运输

本试剂盒自生产之日起可保存12个月。所有试剂及用品可保存于室温（15-25°C），室温运输。

### 注意事项

- 使用本试剂盒请做好安全防护，穿戴实验服及佩戴一次性口罩，在BSL-2或更高等级实验室进行实验操作；
- Lysis Buffer A含有胍盐，不要让缓冲液接触到皮肤、眼睛以及黏膜，如果确实发生，请立即用大量清水清洗并就医；
- Lysis Buffer A可能会沉淀，在使用之前请37°C溶解后使用；



- 需自备1.5mL无DNase/RNase离心管，单条试剂托架（针对 BW-MGD2411-A32-32 试剂盒，可从倍沃购买货号 BW-CB136）
- RNase A(Cat No.BW-B0052)/ Lysozyme (Cat No.BW-B003)不包含在试剂盒内，可单独购买。

## 样本处理

### 血清、血浆样本：

取300-1000 μL血清样本，8000 rpm，离心5 min，保留200 μL下层血清，备用。

### 脑脊液、肺泡灌洗液和痰液样本

转移700 μL~800 μL 样本至2mL离心管中（加入500uL氧化锆珠或玻璃珠），放入破壁仪中破壁1分钟，结束后8000rpm离心1分钟，转移200uL上清至1.5mL管或板中备用。

### 粘稠痰液样本：

1. 转移500uL样本至1.5mL离心管中，再加入500 μL of 2% NaOH溶液（需自备），涡旋振荡1分钟，室温放置15-20分钟（不超过20分钟），直到粘稠液体变成清夜；
2. 10000rpm离心1分钟，弃去上清，加入200uLPBS或生理盐水或实验用水，用枪头吹打混匀，备用；

★2% NaOH溶液的配制：取1g NaOH，溶于40 mL纯化水中，溶解后定容至50 mL。

### 尿液样本

样本体积	≤2mL	≤10mL	≤40mL
离心管体积	2mL	15mL	50mL
离心条件	5000rpm x10min		
PBS或生理盐水	200ul	200ul	1-2.25mL
对应试剂盒	BW-MGD2411-A32/A96		BW-MGD2411-A24

转移相应体积的样本至离心管，5000rpm离心10分钟，弃去上清，加入相应体积的PBS或生理盐水，重悬，备用。

### 微生物培养液：

- a. 革兰氏阴性菌：



取1 mL培养物于1.5 mL离心管中，8,000 rpm，离心5 min，弃上清液700 μL，保留300 μL震荡重悬微生物细胞，备用。

b. 革兰氏阳性菌培养物：

取1 mL菌液于1.5 mL离心管中，8,000 rpm，离心5 min，弃上清液800 μL，保留200 μL震荡重悬微生物细胞，加入100 μL溶菌酶(40 mg/mL)，37°C孵育20 min，备用。

c. 真菌培养物：

取1 mL菌液于1.5 mL离心管中，8,000 rpm，离心5 min，弃上清液800 μL，保留200 μL震荡重悬微生物细胞，加入100 μL溶菌酶消化液(40 mg/mL)和2 μL酵母溶壁酶溶液(10 u/μL)，37°C孵育20 min，备用。

## 操作步骤

### 手工操作 (BW-MGD2411-A00)

1. 转移200~400 $\mu$ L预处理样本至1.5mL离心管中, 加入600 $\mu$ L **Lysis Buffer A** 和25 $\mu$ L **proteinase K**混匀, 55°C孵育, 混匀15分钟。可选: 如仅需要基因组DNA, 在Lysis Buffer A加入5 $\mu$ L RNase。
2. 加热结束后恢复至室温, 加入20  $\mu$ L **MgPure Beads** (使用前需混匀) 室温涡旋混匀5分钟。
3. 放入磁力架上吸磁2分钟, 小心弃去上清, 从磁力架取出。
4. 加入 600  $\mu$ L **Wash Buffer 1** 涡旋混匀30秒, 放入磁力架吸磁2分钟, 小心弃去上清, 从磁力架取出。
5. 加入 800  $\mu$ L **Wash Buffer 2** 涡旋混匀30秒, 放入磁力架吸磁2分钟, 小心弃去上清, 从磁力架取出。
6. 重复步骤5一次, 尽可能弃去液体。
7. 放入磁力加上, 开盖室温晾干5-10分钟, 从磁力架取出。
8. 加入 80  $\mu$ L **DEPC-Treated ddH<sub>2</sub>O** 56°C涡旋振荡5分钟 (或每隔2分钟振荡30秒), 结束后放入磁力架吸磁3分钟, 转移清夜至新的1.5mL管中, 如不及时实验, 可保存至-20°C。

### 核酸提取仪 (倍沃 BW Express 16 /SP1604 or 奥盛 Auto-Pure 32A) (BW-MGD2411-A32-32)

1. 根据样本情况取出相应个数单个试剂条, 将试剂及磁珠等轻轻甩到底部 (观察第一孔裂解液是否有沉淀, 如有, 可置于37°C加热溶解), 放入试剂托加上;
2. 撕去封口膜, 加入200~400  $\mu$ L预处理样本至第一列孔中, 再加入25 $\mu$ L **proteinase K**。可选: 如仅需要基因组DNA, 在Lysis Buffer A加入5 $\mu$ L RNase;
3. 装载8联磁棒套;
4. 根据表1设置好提取纯化程序, 开始运行程序;
5. 运行结束后, 取出托架将样本洗脱液转移至新的1.5mL离心管, 备用, 如不及时实验, 可保存于-20°C。

表1. 纯化程序 (奥盛 Auto-Pure 32A )



Step	Well	Name	Mix time (min)	Magnet (sec)	Wait time (min)	Vol. (μL)	Mix speed (1- 10)	Temp. (°C)	Mix pos (0- 100%)	Mix amp (1- 100%)	Magnet pos (0- 100%)	Magnet speed (1- 10)
1	1	Lysis	15	0	0	1000	10	55	0	80	0	1
2	2	Beads	0.5	60	0	800	8	OFF	0	80	0	1
3	1	Bind	5	40	0	800	9	100	0	80	0	1
4	3	Wash1	1	20	0	600	9	OFF	0	80	0	1
5	4	Wash2	1	20	0	800	9	OFF	0	80	0	1
6	5	Wash3	1	20	1	800	9	OFF	0	80	0	1
7	6	Elute	5	40	0	80	10	90	0	80	0	1
8	4	Drop	0.5	0	0	800	8	OFF	0	80	0	1

### 核酸提取仪（倍沃 BW Express 16 /SP1604 or 奥盛 Auto-Pure 32A (BW-MGD2411-A32)）

- 取出试剂板，将试剂及磁珠等轻轻甩到底部（观察第一/七列裂解液是否有沉淀，如有，可置于37℃加热溶解）；
- 撕去封口膜，加入**200~400 uL**预处理样本至第一/七列中，再加入**25uL proteinase K**，将试剂板放入设备中。可选：如仅需要基因组DNA，在Lysis Buffer A加入**5uL RNase**；
- 装载8联磁棒套；
- 根据表2设置好提取纯化程序，开始运行程序；
- 运行结束后，取出试剂板将样本洗脱液转移至新的1.5mL离心管，备用，如不及时实验，可保存于-20℃。

表2. 纯化程序（奥盛 Auto-Pure 32A）

Step	Well	Name	Mix time (min)	Magnet (sec)	Wait time (min)	Vol. (μL)	Mix speed (1-10)	Temp. (°C)	Mix pos (0-100%)	Mix amp (1-100%)	Magnet pos (0-100%)	Magnet speed (1-10)
1	1	Lysis	15	0	0	1000	10	55	0	80	0	1
2	2	Beads	0.5	10	0	400	10	OFF	0	80	0	1
3	1	Bind	5	20	0	1000	10	OFF	0	80	0	1
4	3	Wash1	1	10	0	600	10	OFF	0	80	0	1
5	4	Wash2	1	10	0	800	10	OFF	0	80	0	1
6	5	Wash3	1	10	1	800	10	OFF	0	80	0	1
7	6	Elute	5	20	0	100	10	85	0	80	0	1
8	2	Drop	0.5	0	0	400	5	OFF	0	80	0	1



## 核酸提取仪（奥盛 Auto-Pure 96 (BW-MGD2411-A32)

- 取出Lysis Buffer A板，将试剂及磁珠等轻轻甩到底部（观察裂解液是否有沉淀，如有，可置于37℃加热溶解）；
- 撕去封口膜，加入**200~400 uL**预处理样本至Lysis Buffer A板中，再加入**25uL proteinase K**，将板放入2号板位。可选：如仅需要基因组DNA，在Lysis Buffer A加入**5uL RNase**；
- 撕去所有试剂板封口膜，按照表3将对应的试剂板和磁棒套放入对应板位中；
- 根据表3设置好提取纯化程序，开始运行程序；
- 运行结束后，取出洗脱板将样本洗脱液转移至新的1.5mL离心管，备用，如不及时实验，可保存于-20℃。

**表 3. 纯化程序（奥盛 Auto-Pure 96A）**

Step	Name	Plate	Mix Time (min)	Mix Amp (%)	Wait Time (min)	Vol. (μL)	Mix Speed (1-10)	Temp. (°C)	Seg-ments (0-5)	1st Seg. time (s)	2nd Seg. time (s)	3rd Seg. time (s)	4th Seg. time (s)	5th Seg. time (s)	Cycle times (1-10)	Mag. speed (1-10)	Lip-lvl (0-30s)	Anti-Splash (0-30s)
1	Load	6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
2	Lysis	2	15	80	0	1000	9	55	0	-	-	-	-	-	-	-	0	0
3	Beads	3	0.3	80	0	400	4	OFF	1	10	-	-	-	-	1	1	0	0
4	Bind	2	5	80	0	1000	10	OFF	2	10	10	-	-	-	1	1	0	0
5	Wash1	4	1	80	0	600	10	OFF	1	10	-	-	-	-	1	1	0	0
6	Wash2	5	1	80	0	800	10	OFF	1	10	-	-	-	-	1	1	0	0
7	Wash3	6	1	80	1	800	10	OFF	1	10	-	-	-	-	1	1	0	0
8	Elute	8	5	80	0	100	3	85	1	20	-	-	-	-	1	1	0	0
9	Unload	6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

## 核酸提取仪（奥盛 Auto-Pure 24 (BW-MGD2411-A24)

- 取出Lysis Buffer A板，将试剂及磁珠等轻轻甩到底部（观察裂解液是否有沉淀，如有，可置于37℃加热溶解）；
- 撕去封口膜，加入**1~2.25 mL**预处理样本至Lysis Buffer A板中，再加入**100 μL proteinase K**，将板放入2号板位。可选：如仅需要基因组DNA，在Lysis Buffer A加入**20uL RNase**；
- 撕去所有试剂板封口膜，按照表4将对应的试剂板和磁棒套放入对应板位中；
- 根据表4设置好提取纯化程序，开始运行程序；



5. 运行结束后，取出洗脱板将样本洗脱液转移至新的1.5mL离心管，备用，如不及时实验，可保存于-20℃。

表4. 纯化程序（奥盛 Auto-Pure 24A）

Step	Name	Plate	Mix Time (min)	Mix Amp (%)	Wait Time (min)	Vol. (μL)	Mix Speed (1-10)	Temp. (°C)	Seg-mnts (0-5)	1st Seg. time (s)	2nd Seg. time (s)	3rd Seg. time (s)	4th Seg. time (s)	5th Seg. time (s)	Cycle times (1-10)	Mag. speed (1-10)	Lip-lvl (0-30s)	Anti-Splash (0-30s)
1	Load	6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
2	Lysis	2	15	80	0	5000	7	55	0	-	-	-	-	-	-	-	0	0
3	Beads	3	0.3	80	0	1000	4	OFF	1	10	-	-	-	-	1	1	0	0
4	Bind	2	5	80	0	5000	8	OFF	2	10	10	-	-	-	1	1	0	0
5	Wash1	4	1	80	0	1000	8	OFF	1	10	-	-	-	-	1	1	0	0
6	Wash2	5	1	80	0	1000	8	OFF	1	10	-	-	-	-	1	1	0	0
7	Wash3	6	1	80	1	1000	8	OFF	1	10	-	-	-	-	1	1	0	0
8	Elute	8	5	80	0	200	3	85	1	20	-	-	-	-	1	1	0	0
9	Unload	6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

杭州倍沃医学科技有限公司

[www.beiwobiomedical.com](http://www.beiwobiomedical.com)

400-115-2855

[market@beiwobiomedical.com](mailto:market@beiwobiomedical.com)