

【产品名称】

通用名称：核酸提取或纯化试剂 商用名称：磁珠法病原 DNA/RNA 富集试剂盒

【包装规格】

72 人份/盒, 96 人份/盒, 24 人份/盒 (测试)

【预期用途】

本产品适合于从血液、血清、血浆、拭子浸泡液、积液、匀浆液等样品提取病原总 DNA。试剂盒基于超顺磁性的磁性粒子纯化技术。洗脱的 DNA/RNA 可直接用于 PCR、病毒检测、二代测序等实验。

【检验原理】

本产品基于高结合力的磁性粒子的纯化方式。样品在消化液和蛋白酶 K 作用下裂解消化，DNA/RNA 释放到消化液中，加入磁性粒子和结合液后，DNA/RNA 会吸附在磁性粒子的表面，而蛋白质等杂质则不被吸附而去除。吸附了 DNA/RNA 的粒子经洗涤液洗涤去除蛋白质和杂质，最后 DNA/RNA 被洗脱液 AVE 洗脱。

【主要组成成份】

产品编号	R6672-00C, 测试	R6672-01C	R6672-02C
纯化次数	24 人份	72 人份	96 人份
2ml 研磨管	24 次	72 次	96 次
Reagent DX	1.0 ml	3 ml	3ml
消化液 SDS	1.5 ml	10 ml	10 ml
消化液 CLB2	10 ml	30 ml	40 ml
蛋白酶 K	12 mg	36 mg	50 mg
Nuclease	-	25 KU	25 KU
Nuclease Buffer	1.5 ml	5 ml	5 ml
蛋白酶溶解液	1.8 ml	5 ml	5 ml
磁珠液 MB	1.2 ml	3.5 ml	4.5 ml
结合液 MLB	30 ml	90 ml	120 ml
洗涤液 MW1*	13 ml	22 ml	44 ml
洗涤液 MW2*	10 ml	20 ml	50 ml
洗脱液 AVE	10 ml	20 ml	20 ml

【储存条件及有效期】

本产品室温运输，长期保存时，把蛋白酶 K、Nuclease 和磁珠液 MB 保存于 2-8℃，其余产品保存于室温，有效期 18 个月。

【准备工作】

- 溶解蛋白酶 K: 按标签所示加入蛋白酶溶解液，颠倒混匀，充分溶解后保存于-20℃。
- 溶解 Nuclease: 加入 1.2ml 蛋白酶溶解液至 Nuclease 干粉中，混匀溶解后保存于-20℃。
- 使用前，洗涤液 MW1/MW2，按标签所示，加入适量的无水乙醇进行稀释。
- Reagent DX 与消化液 SDS 可以按比例进行预先混匀，使用前先颠倒混匀再分装。

第一部分：样品前处理流程

A: 病原总核酸提取（快速）

1. 转移 0.5~1.5 ml 的全血、血水、积液、血清、血浆、匀浆液、拭子浸泡液等体液样品至 2ml 离心管中，于 2,000 × g 离心 10 分钟去除脱落细胞。
2. 转移 0.5ml 上清液至 1.5ml 离心管中。加入 25µl Nuclease Buffer 和 10µl Nuclease，颠倒混匀，室温振荡温育 15 分钟消化胞外核酸。
3. 在 2ml 研磨管，先加入 2µl Reagent DX 和 50µl 消化液 SDS。然后加入 0.5ml 经 Nuclease 处理的样品（步骤 2），最后加入 20µl 蛋白酶 K。旋紧盖子，转移至在涡旋仪上涡旋 10 分钟或转移至珠磨仪进行珠磨。
4. 65 度温育 20 分钟，13,000 × g 离心 3 分钟，按第 2/3 部分进行操作。

B: 病原总核酸富集提取

1. 取 1.0~1.5ml 血浆、积液、全血、匀浆液、细胞悬液、拭子浸泡液等体液至 2ml 离心管中，5,000 × g 离心 5 分钟去除脱落细胞。转移 250ul 上清液（含病原和支原体）至新的离心管中，用于病毒和支原体提取（第 4 步）。
2. 保留余下残液和沉淀，涡旋重悬沉淀，加入 0.25 倍体积的消化液 CLB2 (200~300µl)，颠倒混匀 10-15 次。室温放置 10 分钟，其间颠倒混匀数次。13,000 × g 离心 10 分钟收集微生物细胞，小心吸弃上清液。
3. 加入 250µl 洗脱液 AVE 至沉淀中，涡旋重悬沉淀，加入 25µl Nuclease Buffer 和 10µl Nuclease，混匀，室温振荡温育 20 分钟。

- 在 2ml 研磨管中,先加入 50 μ l 消化液 SDS 和 2 μ l Reagent DX。转移第 4 步的全部消化液以及 250 μ l 病毒上清液(第一步)至匀浆管中,最后加入 20 μ l 蛋白酶 K。旋紧盖子,转移至涡旋仪上涡旋 10 分钟或珠磨仪上珠磨裂解微生物。
- 65 度温育 20 分钟, 13,000 x g 离心 3 分钟, 按第 2/3 部分进行操作。

第二部分：手工抽提流程

- 转移 400~500 μ l 消化液至新的 2ml 离心管中,入 1ml 结合液 MLB 和 40 μ l 磁珠液 MB, 室温颠倒混匀 8 分钟, 转移至磁力架上, 静置 5 分钟吸附磁珠, 吸弃溶液。
- 加入 500 μ l 洗涤液 MW1, 涡旋混匀 10 秒。转移至磁力架上, 静置 2 分钟吸附磁珠。小心吸弃所有溶液。
- 加入 500 μ l 洗涤液 MW2, 涡旋混匀 10 秒。转移至磁力架上, 静置 2 分钟吸附磁珠。小心吸弃所有溶液。
- 重复第 3 步一次。
- 短暂离心, 收集管壁上的液滴, 吸弃所有溶液。空气干燥 3 分钟。
- 加 50~100 μ l 洗脱液 AVE 或灭菌水等缓冲液, 涡旋打散磁珠。室温放置 10 分钟, 其间轻轻振荡 1~2 次加速溶解。转移至磁力架上, 静置 3 分钟。转移 DNA/RNA 溶液至新的 1.5ml 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。

孔位	预装试剂	使用前加入
第1/7排孔	500 μ l 结合液 MLB	200~250 μ l 上清液
第2/8排孔	500 μ l 结合液 MLB	200~250 μ l 上清液
第3/9排孔	500 μ l 洗涤液 MW1	
第4/10排孔	500 μ l 洗涤液 MW2 40 μ l 磁珠液MB	
第5/11排孔	500 μ l 洗涤液 MW2	
第6/12排孔	70 μ l 洗脱液AVE	

- 在第 1/7 排孔中和 2/8 排孔中, 分别加入 200~250 μ l 上清液(按第一部分的 A 或 B 步骤进行操作)。
- 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。

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	4	500	20s	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
2	结合1	1	700	300s	8	0	0	120s	50	50	自动	/	/
3	结合2	2	700	300s	8	0	0	120s	50	50	自动	/	/
4	清洗1	3	500	90s	8	0	0	90s	30	30	自动	/	/
5	清洗2	4	500	90s	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
6	清洗3	5	500	60s	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
7	干燥	5	500	0	8	2	0	0	0	0	自动	/	/
8	洗脱	6	100	300s	9	0	0	60s	0	50	自动	/	/
9	弃磁	4	500	30s	9	0	0	0	0	0	自动	/	/

- 约 40 分钟提取结束, 取出 96 孔板和磁力外套。
- 把 RNA 转移至 1.5ml 离心管中, 把产物保存于-20~8 $^{\circ}$ C。

【备案信息】

备案人/生产企业名称：广州美基生物科技有限公司

住所：广州市黄埔区联浦街 16 号 502 房

生产地址：广州市黄埔区联浦街 16 号 502 房

售后服务单位：广州美基生物科技有限公司

电话：020-89857862

传真：020-89857862

生产备案凭证编号：粤穗食药监械生产备 20160033 号 备案号：粤穗械备 20150062 号