

【产品名称】

通用名称：核酸提取或纯化试剂 商用名称：磁珠法病原总核酸预分装试剂盒

【包装规格】

72 人份/盒, 96 人份/盒, 版本：二代测序

【预期用途】

本试剂盒适用于从多种临床样本（包括血清和血浆）中提取病原总核酸。试剂盒基于超顺磁性的磁性粒子纯化技术。得到的 DNA/RNA 可直接用于荧光定量、生物芯片分析、二代测序等相关实验。

【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】

货号	R6672-00B	R6672-01B	R6672-02B
纯化次数	测试, 24 次	72 人份	96 人份
蛋白酶 K	12 mg	50 mg	50 mg
蛋白酶溶解液	1.8 ml	3 ml	3 ml
2ml 研磨管	24	72	96
Buffer SDS (20%)	1.5 ml	3 ml	1.5 ml
Reagent DX	1.5 ml	1.5 ml	1.5 ml
磁珠液 MB	0.6 ml	1.6 ml	2.5 ml
结合液 MLB	15 ml	60 ml	60 ml
洗涤液 MW1	13 ml	22 ml	44 ml
洗涤液 MW2	6ml	20 ml	50 ml
洗脱液 AVE (Proclin)	5 ml	20 ml	30 ml

【储存条件及有效期】

试剂盒室温运输，有效期为 18 个月。溶解后的蛋白酶 K 保存于-20℃。

【准备工作】

- 溶解蛋白酶 K: 按标签所示加入适量的蛋白酶溶解液至蛋白酶 K 干粉中，颠倒混匀 10~15 次让蛋白酶 K 充分溶解，保存于-20℃。

第一部分：样品前处理

● 从生物样品中提取病原总核酸

- 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 x g 离心 10 分钟去除脱落细胞。
- 在 2ml 研磨管中，加入 50µl Buffer SDS (20%) 和 2µl Reagent DX。然后加入~0.5ml 血浆、血清、体液、匀浆悬液、培养液、细胞悬液、浸泡液、病原浓缩液至 2ml 研磨管中，再加入 20µl 蛋白酶 K，盖上盖子。颠倒混匀，在涡旋仪上涡旋 10 分钟或转移至珠磨仪上珠磨 3-5 分钟。
- 取出样品，55 度温育 15 分钟，短暂离心。
- 按第 2/3 三部分进行操作。

● 从全血/腹水/痰液/唾液/积液等样品中富集提取病原总核酸 [本方案需要订购 Nuclease 套装, R4917-01]

- 取 1.0-1.5ml 全血、腹水、痰液液化液、积液、组织匀浆液、拭子浸泡液至离心管中，于 2,000 x g 离心 10 分钟让体细胞沉淀到管底，转移 0.25ml 上清液至新的离心管中，待用（按第 5 步进行病毒总核酸提取）。
- 涡旋重悬余下的沉淀和残液，加入 0.2 倍体积的 Buffer CLB2(200~300µl)，颠倒混匀，室温放置 10 分钟裂解体细胞，其间颠倒混匀数次。13,000 x g 离心 5 分钟收集细菌或真菌微生物，小心吸弃上清液。
- 加入 250µl 洗脱液 AVE 至沉淀中，涡旋重悬样品。加入 25µl Nuclease Buffer 和 10µl Nuclease，颠倒混匀，室温放置 30 分钟消化去除 DNA，其间颠倒混匀数次。
- 在 2ml 研磨管中，加入 50µl Buffer SDS (20%) 和 2µl Reagent DX。
- 转移 250µl 含病毒的上清液（第 1 步）和 250µl 核酸酶处理的消化液（第 3 步）至匀浆管，最后加入 20µl Proteinase K，盖上盖子。颠倒混匀，在涡旋仪上涡旋 10 分钟或转移至珠磨仪上珠磨 3-5 分钟。
- 取出样品，60 度温育 15 分钟，短暂离心，按第二部分手工操作或第三部分 32 通道核酸提取仪操作。

第二部分：手工纯化

1. 转移 200~300µl 匀浆液至新的离心管中，加入 20µl 磁珠液 MB 和 500µl 结合液 MLB。颠倒混匀 10-15 次，室温放置 5 分钟，其间颠倒混匀数次。转移至磁力架上，静置~5 分钟吸附磁珠，小心吸弃所有溶液。
2. 加入 500µl 洗涤液 MW1，涡旋混匀 15 秒。转移至磁力架，静置~1 分钟吸附磁珠。吸弃溶液。
3. 加入 500µl 洗涤液 MW2，涡旋混匀 15 秒。转移至磁力架，静置~1 分钟吸附磁珠。吸弃溶液。
4. 重复第 3 步一次。
5. 短暂离心，吸弃所有溶液，空气干燥 2 分钟。
6. 加 50~100µl 洗脱液 AVE (Proclin)，涡旋打散磁珠。放置 5~10 分钟，其间涡旋数次让核酸溶解。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 通道核酸提取仪操作

1. 按下表把洗涤液/样品等加到深孔板对应的孔中。

孔位	预装试剂	使用前加入
第1/7排孔	500µl 结合液 MLB	250~300µl 匀浆液
第2/8排孔	500µl 洗涤液MW1, 20µl 磁珠液MB	
第3/9排孔	500µl 洗涤液 MW2	
第4/10排孔	500µl 洗涤液MW2	
第5/11排孔		
第6/12排孔	50~100µl 洗脱液AVE	

2. 打开机器，把磁力外套插到仪器中，并把 96 孔板放到仪器中。
3. 启动对应程序。约 35 分钟后，结束。
4. 取出 96 孔板和磁力外套。
5. 把 RNA/DNA 转移至 1.5ml 离心管中，把产物保存于-20~-8℃。

【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

附：MagMix 32 操作参数

序号	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	2	500	1 min	8	0	0	90s	0	0	自动	/	/
2	结合	1	800	6 min	8	0	0	120s	30	30	自动	/	/
3	清洗1	2	500	1 min	8	0	0	90s	15	15	自动	/	/
4	清洗2	3	500	1 min	9	0	0	60s	0	0	自动	/	/
5	清洗3	4	500	1 min	9	0	0	60s	0	0	自动	/	/
6	干燥	4	500	0	0	1	晾干	0	0	0	自动	/	/
7	洗脱	6	100	6 min	9	0	0	90s	0	40	自动	6	55
8	弃磁	2	500	0.5min	9	0	0	0	0	0	自动	/	/

附：Nuclease 消化套装

货号	R4917-01
处理次数	96 次
Nuclease	25 KU
蛋白酶溶解液	1.8 ml
Buffer CLB2	40 ml
Nuclease Buffer	3 ml
本产品，室温运输。长期保存时把Nuclease（干粉）放置于-20℃。使用前，每管加入1.2ml蛋白酶溶解液至Nuclease中，溶解后保存于-20℃。	