

MolPure® Magnetic Pathogen DNA/RNA Kit

磁珠法病原 DNA/RNA 提取试剂盒

产品简介

MolPure® Magnetic Pathogen DNA/RNA Kit 磁珠法病原 DNA/RNA 提取试剂盒适用于从生物液体样本如宫颈拭子保护液(建议不使用含高浓度胍盐保护液)、全血、血浆、痰液、肺泡灌洗液、脑脊液等样本中提取病原微生物核酸,该方法采用磁珠纯化技术,提取过程中无需使用有毒的酚氯仿抽提,安全无毒且快捷。该方法采用化学法与机械法相结合的裂解方式,纯化的核酸包括病毒、支原体、细菌、真菌等微生物的核酸,得到的产物可直接用于 PCR、qPCR、宏基因组文库构建、DNA/RNA 共建库等实验。配合磁珠法自动化提取仪器使用,可实现核酸的高通量提取。

产品信息

货号	18306ES24/18306ES48
规格	24T/48T

组分信息

类别	组分编号	组分名称	18306ES24	18306ES48
Part I	18306-A	蛋白酶 K	0.7 mL/支×1	1.1 mL/支×1
	18306-B	裂解增强液	4 mL/瓶×1	5 mL/瓶×1
Part II	18306-C	研磨管	0.4 g/支×24	0.4 g/支×48
	18306-D	裂解结合液	20 mL/瓶×1	33 mL/瓶×1
	18306-E	磁珠悬浮液	0.7 mL/支×1	1.1 mL/支×1
	18306-F	洗涤液 A	20 mL/瓶×1	40 mL/瓶×1
	18306-G	洗涤液 B	40 mL/瓶×1	80 mL/瓶×1
	18306-H	洗脱液	4 mL/瓶×1	6 mL/瓶×1

储存条件

Part I, 18306-A 蛋白酶 K, 2~8°C 保存, 室温运输, 有效期为 18 个月。

Part II, 室温保存, 室温运输, 有效期为 18 个月。

注意事项

1. 本试剂盒中的多种缓冲液含有胍盐, 为了您的安全和健康, 请穿实验服并佩戴一次性手套操作。并按照安全标准预防措施来处理。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。
2. 如果溶液出现沉淀, 需要 30°C 水浴至沉淀完全溶解后方可使用。
3. 如果裂解增强液出现沉淀, 需要 60°C 水浴至沉淀完全溶解后使用。
4. 如果磁珠悬浮液冻结, 请勿使用。
5. 本试剂盒中的多种缓冲液含胍盐, 请勿用氧化性消毒剂如次氯酸钠进行处理, 否则会释放有毒气体, 须按医疗废物进行处理。
6. 洗脱时可能存在磁珠残留, 吸取样本时应尽量避免吸入磁珠。

样本说明

1. 适用标本类型：宫颈拭子、全血、血浆、痰液、肺泡灌洗液、脑脊液等样本。
2. 标本保存和运输：标本可立即用于测试，也可以保存于-70°C或更低温度待测，保存期为 6 个月，应避免反复冻融。标本运输采用冷链运输。
3. 冻融要求：速冻速融，避免反复冻融。
4. 拭子类保护液可能含有高浓度胍盐，会与**裂解增强液**反应导致提取效果不佳；如确需提取该类样本，无需加入**裂解增强液**，步骤 1 处理完后，按照步骤 4 继续操作。
5. 全血样本：如脐带血，骨髓血这些细胞含量高的全血，提取过程中可能会出现磁珠残留或颜色残留，建议将样本用生理盐水或 PBS 稀释后再进行核酸提取。
6. 痰液样本：提取过程中容易出现磁珠残留，建议将样本用生理盐水或 PBS 稀释后再进行核酸提取。

操作步骤

实验前检查溶液是否有沉淀，磁珠是否能重悬。

第一部分：样本处理

1.1 根据不同样本类型选择对应步骤进行处理

- A. 病毒、支原体、衣原体类核酸提取：取 200~300 μL 液体样本、20 μL **蛋白酶 K** 至离心管中，加入 600 μL **裂解结合液**，按照步骤 4 操作提取，无需进行前处理。
- B. 非真菌类、易裂解微生物核酸提取：取 350~400 μL 液体样本至**研磨管**中，加入 40 μL **裂解增强液**、20 μL **蛋白酶 K**，高速涡旋 1 min 混匀。

备注：易裂解细菌：革兰氏阴性菌如大肠杆菌、流感嗜血杆菌、嗜肺军团菌、百日咳杆菌、霍乱弧菌等。

- C. 真菌类、难裂解微生物核酸提取：取 350~400 μL 液体样本至**研磨管**中，再加入 40 μL **裂解增强液**、20 μL **蛋白酶 K**，在涡旋仪最大转速涡旋或转移至震荡破碎仪高速研磨样本 10 min（不同品牌震荡破碎仪，请选择仪器推荐程序）。

备注：真菌：白假丝酵母菌、热带假丝酵母菌、黄曲霉、青霉菌。难裂解细菌：革兰氏阳性菌如葡萄球菌、霉菌、肺炎链球菌等。

1.2 转至水浴锅或干式恒温仪中，70°C温浴 20 min 进一步裂解样本，裂解后取出涡旋混匀 30 s。

1.3 若裂解后溶液出现浑浊，10,000 \times g 离心 1 min；若裂解后溶液清澈透明，瞬时离心 30 s 即可。

备注：如木霉菌等真菌离心后上清有颜色，可联系内部搭配沉淀液 SPS，按以下流程操作：取 300 μL 离心后上清到新的离心管中，加入 100 μL 沉淀液 SPS 混匀后，4°C冰浴 10 min，10,000 \times g 离心 3 min。

第二部分：单管操作

- 2.1 吸取**步骤 1.3**的 200~300 μL 上清溶液至新的离心管，加入 600 μL **裂解结合液**，小心吸取，避免吸到沉淀或玻璃珠。
- 2.2 加入 20 μL **磁珠悬浮液**，涡旋混匀 30 s，振荡或涡旋 5~7 min 使磁珠吸附核酸。
- 2.3 转移至磁力架上进行磁分离至溶液澄清，吸弃溶液。
- 2.4 加入 700 μL **洗涤液 A**，涡旋 30 s 后转移至磁力架上吸附至溶液澄清，吸弃溶液。

2.5 加入 700 μL **洗涤液 B**，涡旋 30 s 打散磁珠后转至磁力架上进行磁分离至溶液澄清，吸弃溶液。

2.6 再次加入 700 μL **洗涤液 B**，涡旋 30 s 打散磁珠后转至磁力架上进行磁分离至溶液澄清，吸弃溶液。

2.7 短暂离心收集管壁上液滴，转移至磁力架上待澄清，吸尽残液。空气干燥 3-5 min。

2.8 加入 30~100 μL **洗脱液**，高速涡旋 2~3 min 打散磁珠。60 $^{\circ}\text{C}$ 振荡温育 5 min。若无振荡混匀器，其间涡旋混匀 2~3 次。

注意：乙醇残留会抑制后续的酶反应，所以晾干时要确保乙醇挥发干净。切勿干燥过久，以免影响后续洗脱效果。

2.9 瞬时离心收集管盖液滴至管中，转移至磁力架，直至磁珠完全吸附后，小心将液体转移至新的离心管，即得到核酸溶液。

2.10 核酸溶液可置于-20 $^{\circ}\text{C}$ 短期保存，-80 $^{\circ}\text{C}$ 长期保存。

第三部分：搭配翌圣 AP-16S 和 AP-48 核酸提取仪操作

3.1 将瓶装试剂分装至 96 孔板 (Cat#83671ES) 对应的孔中，按如下表格分装：

列	步骤	溶液名称	分装体积
1/7	结合	裂解结合液	600 μL (上样后总体积约 900 μl)
2/8	漂洗 1	洗涤液 A	800 μL
3/9	漂洗 2	洗涤液 B	800 μL
4/10	漂洗 3	洗涤液 B	800 μL
		磁珠悬浮液	20 μL
5/11	洗脱	洗脱液	40-100 μL
6/12	—	—	—

3.2 吸取**步骤 1.3** 的 200~300 μL 上清溶液加入样本处理孔 (第 1、7 列) 并吹打混匀 3-5 次。

3.3 按照提取仪的位置，正确安放上述 96 孔预装板，并放置 8 联磁棒套。**根据使用的提取仪，AP-16S 和 AP-48 分别启动不同的程序。**

3.4 运行如下程序，程序结束后，洗脱孔 (第 5、11 列) 中的溶液即为核酸溶液。溶液可置于-20 $^{\circ}\text{C}$ 短期保存，-80 $^{\circ}\text{C}$ 长期保存。

AP-16S 核酸提取仪的提取程序

步骤	第 1 步	第 2 步	第 3 步	第 4 步	第 5 步	第 6 步	第 7 步
工位	4	1	2	3	4	5	4
等待时间	0:00:00	0:00:00	0:00:00	0:00:00	0:00:00	0:01:00	0:00:00
混合模式	2	2	3	3	3	2	2
混合时间	0:00:30	0:10:00	0:02:00	0:01:00	0:01:00	0:05:00	0:00:30
是否暂停	否	否	否	否	否	否	否
吸磁时间	0:01:00	0:02:00	0:02:00	0:01:00	0:01:00	0:03:00	0:00:00
体积	900	800	800	800	800	100*	800
温度	--	25 $^{\circ}\text{C}$	--	--	--	70 $^{\circ}\text{C}$	--
混合模式 2：混合速度 12000，混合时间 10s							
混合模式 3：混合速度 18000，混合时间 10s							

备注：第 6 步洗脱体积，可以根据实际加入的洗脱液体积设置。

AP-48 核酸提取仪的提取程序

步骤	第 1 步	第 2 步	第 3 步	第 4 步	第 5 步	第 6 步	第 7 步
工位	4	1	2	3	4	5	4
等待时间	0:00:00	0:00:00	0:00:00	0:00:00	0:00:00	0:01:00	0:00:00
混合模式	1	1	2	2	2	1	1
混合时间	0:00:30	0:10:00	0:02:00	0:01:00	0:01:00	0:05:00	0:00:30
是否暂停	否	否	否	否	否	否	否
吸磁时间	0:01:00	0:02:00	0:02:00	0:01:00	0:01:00	0:03:00	0:00:00
体积	900	800	800	800	800	100*	800
温度	--	25°C	--	--	--	70°C	--
混合模式 1: 混合速度 200000, 混合时间 10s							
混合模式 2: 混合速度 300000, 混合时间 10s							

第四部分：翌圣 AP-96N 核酸提取仪操作

4.1 将瓶装试剂分装至对应的 96 孔板 (Cat#83671ES)，按如下表格分装：

板位	步骤	试剂名称	投入量
板位 1	结合	裂解结合液	600 μ L
板位 2	漂洗 1	洗涤液 A	800 μ L
板位 3	漂洗 2	洗涤液 B	800 μ L
板位 4	漂洗 3	洗涤液 B	800 μ L
		磁珠悬浮液 (加入前混匀)	20 μ L
板位 5	—	—	—
板位 6	洗脱	洗脱液	40-100 μ L

4.2 吸取步骤 1.3 的 200~300 μ L 上清溶液加入板位 1 (裂解结合板) 中，并吹打混匀 3-5 次。

4.3 将各 96 孔板按顺序放入核酸提取仪器中，并放置好 96 深孔磁棒套 (Cat#83661ES)。

4.4 运行如下程序，程序结束后，将洗脱板中的洗脱液转移至新的离心管中，溶液可置于 -20°C 短期保存，-80°C 长期保存。

AP-96N 通道核酸提取仪的提取程序

步骤	第 1 步	第 2 步	第 3 步	第 4 步	第 5 步	第 6 步	第 7 步
工位	4	1	2	3	4	6	4
等待时间	0:00:00	0:00:00	0:00:00	0:00:00	0:00:00	0:01:00	0:00:00
混合模式	1	1	2	2	2	1	1
混合时间	0:00:30	0:10:00	0:02:00	0:01:00	0:01:00	0:05:00	0:00:30
是否暂停	否	否	否	否	否	否	否
吸磁时间	0:01:00	0:02:00	0:02:00	0:01:00	0:01:00	0:03:00	0:00:00
体积	900	800	800	800	800	100*	800
温度	--	25°C	--	--	--	70°C	--
混合模式 1: 混合速度 200000, 混合时间 10s							
混合模式 2: 混合速度 300000, 混合时间 10s							