

GNM 病毒&病原体核酸提取分离试剂盒

(磁珠法)

说明书

货 号:

HCD0206-050 (50T)

一、预期用途

GNM 病毒&病原体核酸提取分离试剂盒(磁珠法)是基于磁珠技术,从各类研究样品类型中,诸如 DNA 病毒、RNA 病毒 的核酸提取方面,纯化出高质量的核酸。该试剂盒支持手动操作与自动化方式,与核酸提取仪配合使用时,可实现样品的自动处理,操作极为方便快捷。

二、产品原理

该试剂盒依据磁珠法检测原理,可从生物制品样品中分离出 DNA 和 RNA 总核酸。首先,通过蛋白酶 K 对样品进行消化处理。随后,在特定条件下,磁珠与核酸特异性结合,接着利用磁性分离器将磁珠与溶液分离,再经过洗涤步骤去除杂质。最后,使用洗脱液促使磁珠释放吸附的物质,从而得到高纯度的核酸。整个过程安全且便捷,无需酚、氯仿等试剂。

三、试剂盒规格及组分

序号	组分名称	HCD0206-050 (50T)	保存
Box I	细胞分离缓冲液*	1 mL×2 管	RT
	裂解液 G	10mL	RT
	清洗液 A	30mL	RT
	清洗液 B	9mL	RT
	洗脱液	8mL	RT
	P 磁珠**	750μL	2~8℃
Box II	蛋白酶 K(20mg/mL)	1mL	-20±5℃
	5M NaCl	1mL	-20±5℃
	糖原	500μL	-20±5℃
	tRNA	20μL	-20±5℃

*根据需要加入 0.1 倍样本体积,室温处理 5 分钟,做细胞核分离;

**P 磁珠常温运输, 2~8℃储存。

四、储存条件及有效期

BoxI常温运输，收货后 P 磁珠 2~8℃储存，其他常温储存；

BoxII干冰或冰袋运输，收货后低温-20±5℃储存；

试剂盒收货后有效期 1 年。

五、相关设备、耗材及试剂

一次性无尘手套、1.5mL 无菌低吸附离心管、磁力架/全自动磁珠提取仪、移液器、10μL 枪头、20μL 枪头、100μL 枪头、200μL 枪头、1000μL 枪头、涡旋混匀仪、小型离心机、恒温混匀仪、超净台、无水乙醇、异丙醇、1×PBS。

六、实验流程

1. 缓冲液制备

- a) 首次使用试剂盒前，向清洗液 B 中加入标签指定量的无水乙醇，如 9mL 的清洗液 B 中加无水乙醇 21mL，1.5mL 的清洗液 B 中加无水乙醇 3.5mL，并在标签的口上打√做好标记；
- b) 准备异丙醇；
- c) 将低温-20±5℃储存试剂解冻。

2. 实验步骤

A、样品设置流程如下：

- a) 根据需要处理后，取 200μL 样本；
- b) **阴性对照品**：取 200μL 1×PBS 作为阴性对照品；
- c) **阳性对照品**：取阳性对照品/内部质控（内部质控 PC 为相应检测试剂盒），加入 1×PBS 或样品基质至 200μL，混匀离心，作为阳性对照品；
- d) 进入提取步骤。

C、操作方法(手工提取)

- a) 开始提取程序前，将各组分试剂置于室温，振荡混匀。
- b) 在**样本溶液**中（约200μL），加入 10μL 5M NaCl、10μL 蛋白酶 K，100μL 裂解液 G，涡旋混匀 5s。

注：如若该样本的整体核酸含量少于 10ng 以下，请在该步骤加入 8.3μL 糖原及 0.2μL tRNA。

- c) 离心管置于恒温混匀仪上，57℃孵育 10min。
- d) 将 P 磁珠完全重悬，向离心管中加入 270μL 异丙醇、15μL P 磁珠悬浮液，涡旋混匀 5s。
- e) 离心管置于恒温混匀仪上，室温下 1200 rpm 混匀 5min。
- f) 离心管 15000×g 离心 5s，将离心管置于磁力架上静置 2~5min，待磁珠完全被吸附后，在不干扰磁珠的情况下，使用移液器去除上清液。
- g) 向离心管中加入 300μL 清洗液 A，涡旋混匀 15s，15000×g 离心 5s 后置于磁力架上静置 2~5min，待磁珠完全被吸附后，在不干扰磁珠的情况下，使用移液器去除上清液。
- h) 向离心管中加入 300μL 清洗液 B，涡旋混匀 15s，15000×g 离心 5s 后置于磁力架上静置 2~5min，待磁珠完全被吸附后，在不干扰磁珠的情况下，使用移液器去除上清液。
- i) 将离心管瞬时离心后，置于磁力架上，吸弃管底部残留的洗涤缓冲液。打开管盖，室温干燥 30s~5min，除去残留乙醇。（注：乙醇残留会影响后续实验，晾干时要确保乙醇挥发干净，但也不可过于干燥，否则核酸将很难溶解。）
- j) 加入 50-100μL 洗脱液，涡旋混匀 15s 重悬磁珠，置于恒温混匀仪上，55℃ 1200rpm 混匀 5min。
- k) 离心管瞬时离心后，置于磁力架上约 30s（若离心管壁附着磁珠，用离心管内的洗脱液冲洗管壁上的磁珠），待磁珠完全吸附，小心地将溶液转移至干净的离心管中。纯化的 DNA 可立即使用，也可-20℃长期储存。（注：请勿吸入磁珠，磁珠残留会干扰后续实验。）

D、操作方法(仪器提取)

- a) 在开始提取程序前，将各组分试剂置于室温，振荡混匀。
- b) 在样本溶液中（约 200 μL），加入 10 μL 5M NaCl、10 μL 蛋白酶 K，100 μL 裂解液 G，涡旋混匀 5s。

注：如若该样本的整体核酸含量少于 10ng 以下，请在该步骤加入 8.3 μL 糖原及 0.2 μL tRNA。
- c) 离心管置于恒温混匀仪上，57℃孵育 10min。
- d) 将 P 磁珠完全重悬，在第一列或第七列加入 100μL 裂解液 G、270μL 异丙醇、15μL P 磁珠悬浮液。
- e) 在第二列或第八列中加入 300μL 清洗液 A。
- f) 在第三列或第九列中加入 300μL 清洗液 B。

- g) 在第六列或第十二列中加入 100 μ L 洗脱液。
- h) 在**第一列或第七列**中加入步骤c) 消化后的全部样品。
- i) 将加好样的 96 深孔板放入仪器中固定位置。
- j) 把塑料磁力套插入相应位置。
- k) 点击“运行”相应程序。
- l) 程序结束，发出“滴滴”声，立即取出深孔板，将样品纯化产物全部转移到新的离心管。纯化的 DNA 可立即使用，也可 -20 $^{\circ}$ C 长期储存。

	第一组						第二组					
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	S1						PCS					
B	S1						PCS					
C	S2											
D	S2											
E	S3											
F	S3											
G	S4						NCS					
H	S4						NCS					
	样品 消化产物	清洗 液 A	清洗 液 B			洗脱 液	样品 消化产物	清洗 液 A	清洗 液 B			洗脱 液

注：根据不同的机型可以调整相应试剂位置及体积，运行对应程序。

七、注意事项

- a) 实验操作过程中，轻轻打开管盖，勿将液体溅出。
- b) 在提取 DNA/RNA 之前，用 1X PBS(不含 Mg^{2+} 和 Ca^{2+})或 50 mM Tris(pH 8.0，0.5 M NaCl)溶液稀释测试样品，在水中或 TE 中稀释样品会降低提取效率。
- c) 磁珠在静置后会发生沉降，使用前务必使磁珠与溶液充分混匀，磁珠聚集对于提取的得率与纯度均有较大影响。
- d) 样品前处理完成后，请尽量当天进行后续 DNA 残留检测，以保证检测结果的准确性。

- e) 本产品仅供一次性使用，用后按《医疗卫生机构医疗废物管理办法》或其它相关法律法规处理。

八、免责声明

试剂盒仅供研究使用，不得用于临床实验或人体实验，否则所产生的一切后果，由实验者承担，本公司概不负责。严格按照说明书操作，实验者违反说明书操作，后果由实验者承担。