

产品概述

AcuGenix™ Magnetic Microbiota DNA&RNA Isolation Kit (磁珠法病原微生物 DNA&RNA 共提取试剂盒) 是基于硅羟基修饰超顺磁性微球的专用核酸共提取解决方案, 采用自主研发的磁珠及预优化缓冲液体系 (含裂解液、结合液、洗涤液), 可从血液、淋巴液、尿液、胸腹水等临床体液样本中快速、高效共分离高纯度病原 DNA 与 RNA。

本试剂盒所用磁珠经表面功能化修饰, 在优化的结合条件下对核酸具有极强亲和力, 通过调节缓冲体系 pH/盐浓度即可高效洗脱吸附的核酸, 无需酚氯仿抽提、无需乙醇沉淀、无需离心柱过柱操作, 全程闭管完成, 大幅降低气溶胶污染风险。经严格批次验证, 提取的核酸得率稳定、纯度优异 (A260/A280 比值 1.8-2.0), 无蛋白、盐离子及 PCR 抑制剂残留。

所得 DNA 与 RNA 可直接用于下游多种分子检测场景, 包括终点 PCR、荧光定量 PCR (qPCR)、宏基因组 (mNGS) 文库构建、DNA/RNA 共建库、病原耐药基因分析、微生物群落谱分析等, 也可与 AcuGenix™ 全系列逆转录、NGS 建库试剂盒无缝兼容。仅限科研用途。

试剂组成

组分	BR2C102-02 (20 T)	BR2C102-05 (50 T)	BR2C102-07 (100 T)
裂解结合液 RLB2	12 mL	30 mL	60 mL
洗涤液 RWA	12 mL	30 mL	60 mL
漂洗液 RWB	7.5 mL	18.75 mL	37.5 mL
RNase-Free ddH ₂ O	2 mL	5 mL	10 mL
Proteinase K	0.4 mL	1 mL	2 mL
磁珠 RMB	0.4 mL	1 mL	2 mL

保存条件

该试剂盒所有组分置于室温 (15~25℃) 干燥条件下, 可保存 12 个月, 更长时间的保存可置于 2~8℃。2~8℃ 保存条件下, 若溶液产生沉淀, 使用前应将试剂盒内的溶液在室温放置一段时间, 必要时可在 37℃ 水浴中预热 10 min, 以溶解沉淀。

适用范围

适用于血液、淋巴液、尿液、胸腹水、肺泡灌洗液、脑脊液、唾液、拭子、组织、粪便、痰液、无细胞体液、细胞培养上清液或各种病毒保存液中分离纯化高质量病原微生物核酸

注意事项

1. 使用本试剂盒时, 请做好防护措施, 穿戴实验服、一次性乳胶手套和口罩等。
2. 病原样本处理需在生物安全柜中进行。
3. 请使用 Nuclease-free 枪头、Nuclease-free 离心管以避免外源微生物和外源核酸污染。
4. 首次使用本试剂盒前, 请参考瓶身标签向洗涤液 RWA 和漂洗液 RWB 加入指定量的无水乙醇并进行标注。

实验自备材料

需自备的试剂: 无水乙醇; RNase-Free ddH₂O;

需自备的耗材: Nuclease-free 枪头; 1.5 mL 或 2 mL Nuclease-free 离心管;

需自备的仪器: 恒温水浴锅/孵育器; 涡旋混匀仪; 离心机; 多维旋转混匀仪。

提取流程

1. 样本前处理

- 1.1 血液、尿液、胸腹水、脑脊液、唾液、痰液、肺泡灌洗液等样本：将样本取出后平衡至室温，涡旋振荡混匀后直接使用。
- 1.2 拭子样本：如果是干拭子样本，加入一定体积（以浸没拭子为宜）的生理盐水，涡旋振荡混匀后使用；如果含有保存液的拭子样本，涡旋振荡混匀后直接使用。
- 1.3 粪便样本：如果不含保存液的样本，加入一定体积的生理盐水，涡旋振荡混匀后使用；如果含有保存液的样本，涡旋振荡混匀后使用。
- 1.4 组织样本：取组织块（需剪碎到 1000 μ L 枪尖大小）加入一定体积的生理盐水，充分振荡混匀后使用。
- 1.5 组织切片：取 8—10 张玻片上的石蜡标本，用一次性刀片全部刮下转移到 EP 管中，加脱蜡剂 320 μ L（需自备），56℃ 温育 3 min，12000 rpm 离心 1 min，去除上层脱蜡剂。加入一定体积的生理盐水，充分混匀后使用。

2. 手动提取流程

- 2.1 取 1.5 mL 或 2 mL Nuclease-free 离心管加入前处理 300 μ L 样本，在离心管中添加 600 μ L 裂解结合液 RLB2 和 20 μ L Proteinase K，振荡混匀 5-10 sec。
- 2.2 将离心管置于金属浴中 65℃ 孵育 10 min，80℃ 孵育 8 min。
- 2.3 孵育结束后，将离心管取出冷却至室温（如孵育后的样本中有肉眼可见的悬浮物或浑浊，建议将样本在掌上离心机 2000 rpm 离心 1 min 后取上清继续后续步骤）。
- 2.4 加入 20 μ L 磁珠 RMB，多维旋转混匀仪室温孵育 5 min（如出现磁珠沉降，可中途手动混匀 1-2 次）。
- 2.5 将离心管瞬时离心后，置于磁力架上，待溶液完全澄清（一般 1-3 min）后用移液器小心去除上清液。
- 2.6 加入 750 μ L 洗涤液 RWA（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），放置在高维旋转仪上室温孵育 1 min 使磁珠充分悬浮。微离心后将离心管置于磁力架上静置到溶液完全澄清，用移液器小心去除上清液。（备注：添加洗涤液后，可能会出现磁珠聚集现象，属正常现象。尽可能振荡混匀后可继续后续步骤。）
- 2.7 重复步骤 2.6 一次。
- 2.8 加入 750 μ L 漂洗液 RWB（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），放置在高维旋转仪上室温孵育 1 min 使磁珠充分悬浮。微离心后将离心管置于磁力架上静置到溶液完全澄清，用移液器小心去除上清液。
- 2.9 重复步骤 2.8 一次。
- 2.10 再次简短离心后置于磁力架上，去除管底残留液滴，室温晾干 3-5 min，直至磁珠表面不反光。
- 2.11 加入 50-100 μ L RNase-Free ddH₂O，涡旋混匀，微离心后置于恒温孵育器 65℃ 孵育 3 min，简短离心。
- 2.12 将离心管放置于磁力架上静置到溶液完全澄清，小心将上清核酸溶液转移至新的 EP 管中，并于 -20℃ 保存。

3. 自动化提取流程

- 3.1 取一洁净的 1.5 mL EP 管，将前处理好的 300 μ L 样本加入管中，加入 20 μ L Proteinase K，盖紧管盖。充分涡旋混匀 1 min，微离心后将管中全部样本转移到自动化提取仪中第 2/8 列中进行自动化提取。
- 3.2 按下表提前分装好自动化试剂

位置	试剂
第 1/7 列	750 μ L 漂洗液 RWB+20 μ L 磁珠 RMB
第 2/8 列	600 μ L 裂解结合液 RLB2
第 3/9 列	750 μ L 洗涤液 RWA
第 4/10 列	750 μ L 洗涤液 RWA
第 5/11 列	750 μ L 漂洗液 RWB
第 6/12 列	100 μ L RNase-Free ddH ₂ O

- 3.3 以宝泰仪 BTE-32 核酸提取程序为例，推荐按照下表进行提前程序设置（不同自动化提取仪设置存在一定的差异，可参照

手工提取流程自行设置)。

步骤	孔位	混匀频率	混匀时间	静置时间	磁吸次数	晾干时间	裂解温度	洗脱温度
裂解	2	中	750 sec	/	0	0	65°C	/
裂解	2	中	600 sec	/	0	0	80°C	/
移磁	1	中	30 sec	/	2	0	/	/
结合	2	中	300 sec	/	2	0	/	/
洗涤	3	中	60 sec	/	2	0	/	/
洗涤	4	中	60 sec	/	2	0	/	/
洗涤	1	中	60 sec	/	2	0	/	/
洗涤	5	中	60 sec	/	2	90 sec	/	/
洗脱	6	中	90 sec	90 sec	2	/	/	65°C
弃磁	4	中	10 sec	/	0	/	/	/

3.4 程序运行结束后, 取出 96 深孔板, 将**第 6、12 列**中的洗脱液转移至新无核酸酶离心管中, -20°C 长期保存。