

产品概述

AcuGenix™ Magnetic Sputum Nucleic Acid Extraction Kit 痰液核酸提取试剂盒（磁珠法）是专为呼吸道痰液样本设计的病原核酸共提取解决方案，针对痰液高黏液、高宿主细胞背景、含复杂 PCR 抑制因子的特性，采用自主研发的硅羟基修饰超顺磁性微球及预优化缓冲体系，可高效裂解黏蛋白基质、消化宿主细胞，快速释放病原核酸。

本试剂盒所用磁珠经表面功能化修饰，在高盐/低 pH 结合条件下对核酸具有极强亲和力，通过调节缓冲体系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、纯度高，可高效去除黏蛋白、宿主基因组 DNA 及呼吸道分泌物中的 PCR 抑制因子，对低至 10 copies 的痕量呼吸道病原（包括结核分枝杆菌、流感病毒、呼吸道合胞病毒等）仍保持稳定的回收效率。

所得核酸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)、多重呼吸道病原联检、宏基因组 (mNGS) 文库构建、病原耐药基因分析等，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	BR2D103-02 (20 T)	BR2D103-05 (50 T)	BR2D103-07 (100 T)
液化裂解液	10 mL	25 mL	50 mL
Proteinase K	0.4 mL	1 mL	2 mL
磁珠悬浮液	0.4 mL	1 mL	2 mL
洗涤液 A	6 mL	15 mL	30 mL
洗涤液 B	7.5 mL	18.75 mL	37.5 mL
洗脱液	2 mL	5 mL	10 mL
液化液	10 mL	25 mL	50 mL

注：试剂盒中液化液的体积量能液化相同体积的痰液，即 20 T 中 10 mL 的液化液可以处理总 10 mL 的痰液。

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

适用于痰液样本 DNA 提取，也可以用于肺泡灌洗液和菌液等样本 DNA 提取。

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；Nuclease-free ddH₂O；

需自备的耗材：Nuclease-free 枪头；1.5mL 或 2mL 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 根据以下表格初步判断痰液等级

痰液等级	类型	特征
Level I	水样痰（稀痰）	透明或半透明，呈水样，流动性极强，倾倒时可迅速流淌，无粘性或仅有极轻微粘性。
Level II	黏液痰（黏痰）	呈灰白色或无色，质地均匀，有明显粘性，可被挑起成丝（用竹签或吸管可拉成细条而不断），倾倒时流动缓慢。
Level III	粘液脓性痰	黄色、黄绿色或灰黄色，质地较黏稠，兼具黏液的黏性和脓液的浑浊感，可部分拉丝，但易断裂，倾倒时呈团块状缓慢移动； 黏液与脓液混合（脓液含大量中性粒细胞、坏死组织及细菌）。
Level IV	脓性痰（稠痰）	黄色、黄绿色或褐色，质地浓稠，呈膏状或块状，无粘性或仅有微弱粘性，难以挑起，倾倒时不流动，需借助工具刮取。 以脓液为主（大量坏死白细胞、细菌及细胞碎片）
Level V	血性痰（特殊类型）	痰液中混有血液，根据出血量不同可呈血丝痰（少量血丝，黏液性）、血痰（明显血液，黏液脓性）或鲜血痰（大量血液，稀水样）。

1.2 根据痰液等级进行取样

Level I 等级：可直接吸取 250 μ L 样本至 1.5 mL 离心管中，加入 250 μ L 的**液化液**，混匀后静置 5 min 进行后续提取。

Level II -Level V 等级痰液或难以吸取的样本：

方式一：用干净的 1000 μ L 枪头剪去枪尖部分后吸取大约 250 μ L 痰液样本，再加入 250 μ L **液化液振荡** 1~2 min，使样本得到彻底液化（无明显絮状或团状），再静置 8~10 min，然后进行后续提取；

方式二：往样本管中添加约等体积的**液化液**，振荡 1~2 min，使样本得到彻底液化（无明显絮状或团状），静置 8~10 min，再使用移液器吸取 500 μ L 液化后的样本至 1.5 mL 离心管中（若样本体积较多，建议用方式一进行液化，防止液化液不足）。

2. 样本提取

2.1 往液化后的样本中添加 500 μ L **液化裂解液**和 20 μ L **Proteinase K**，在混匀仪上振荡混匀 10 sec-1 min（样本呈现较澄清透亮状态即可）。

2.2 将样本置于恒温水浴锅/孵育器中 65°C 孵育 10 min。（中途观察样本如有絮状物质可每隔 2-3 min 取出振荡 30 sec，加速样本消化）。

2.3 样本继续置于恒温水浴锅/孵育器中 80°C 孵育 10 min。（如孵育后存在较多不溶物或肉眼可见浑浊，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 孵育结束后将样本取出，待样本温度降至室温后加入 20 μ L **磁珠悬浮液**，涡旋混匀 5-10 sec，多维旋转混匀仪室温孵育 5 min，待磁珠充分吸附核酸。

2.5 将样本瞬时离心后置于磁力架上静置，待溶液完全澄清后用移液器小心去除液体。

2.6 加入 750 μ L **洗涤液 A**（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），多维旋转混匀仪混匀 1 min 使磁珠充分悬浮。瞬时离心后将离心管置于磁力架上静置，待溶液完全澄清后用移液器小心去除液体。

2.7 加入 750 μ L **洗涤液 B**（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），多维旋转混匀仪混匀 1 min 使磁珠充分悬浮（部分样本会出现磁珠聚集现象，可继续后续步骤）。微离心后将离心管置于磁力架上静置，待溶液完全澄清后用移液器小心去除液体。

2.8 重复步骤 2.7。

2.9 再次离心后置于磁力架上静置, 去除管底残留溶液, 室温晾干直至磁珠表面不反光 (1~2 min)。

2.10 加入 50~100 μ L **洗脱液**, 涡旋混匀 5-10 sec, 微离心后置于恒温孵育器 65°C 孵育 3 min, 瞬时离心。

2.11 将离心管放置于磁力架上静置直至溶液完全澄清, 小心将核酸溶液转移至新的 EP 管中, 并于 -20°C 保存。