

产品概述

本试剂盒采用具有独特分离作用的磁珠和缓冲液系统,可从血液、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 DNA& RNA。独特包埋的磁珠,在一定条件下对核酸具有很强的亲和力,而当条件改变时,磁珠释放吸附的核酸,能够达到快速分离纯化核酸的目的,提取的 DNA& RNA 得率高、纯度高,适用于多种下游应用,如 PCR、Real-Time PCR、宏基因组文库构建、DNA& RNA 共建库 等。

产品信息

产品名称	货号	规格
Magnetic Microbiota DNA&RNA Isolation Kit	BR2C101-02	20T
磁珠法微生物 DNA& RNA 共提取试剂盒	BR2C101-05	50T
	BR2C101-07	100T

产品组分

产品名称	组分编号	20T	50T	100T
裂解结合液 RLB	2C101-A	6mL	15mL	30mL
核酸保护液 RNP	2C101-B	1.2mL	3mL	6mL
洗涤液 RWA	2C101-C	24mL	60mL	120mL
漂洗液 RWB	2C101-D	7mL	17.5mL	35mL
RNase-Free ddH ₂ O	2C101-E	2mL	5mL	10mL
Proteinase K	2C101-F	0.4mL	1mL	2 mL
磁珠 RMB	2C101-G	0.4mL	1mL	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。

实验自备材料

无水乙醇;

异丙醇;

Nuclease-free 枪头;

高速离心机;

恒温水浴锅/孵育器;

磁力架;

涡旋混匀仪。

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。

手工提取流程

1. 样本处理

1) 血液、尿液、胸腹水、脑脊液、唾液等体液样本, 将样本取出后平衡至室温, 直接进行第 2 步实验。

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; 如果含有拭子和保存液的样本, 涡旋振荡混匀后, 取 300ul 进行第 2 步实验; 若样本体积 > 400 ul, 则转移样本至 1.5ml 无核酸酶离心管中, 12000rpm (13800 × g) 离心 5 min, 弃上清, 使用 350ul 生理盐水重悬沉淀, 取 300ul 进行第 2 步实验。

3) 粪便样本

如果不含保存液的样本, 加入 5 倍体积的生理盐水, 涡旋振荡混匀后, 进行下一步实验。如果含有保存液的样本, 涡旋振荡混匀后, 取 300ul 进行第 2 步实验;

4) 组织样本

取组织块加入适量的生理盐水, 然后进行第 2 步实验。

5) 痰液、肺泡灌洗液

痰液, 粘稠肺泡灌洗液, 如果体积小于 300ul, 需加入生理盐水补足到 300ul, 再在加入 50ul 核酸保护液 RNP 进行液化; 痰液, 粘稠肺泡灌洗液, 如果体积大于 300ul, 则需估算需液化样本的体积, 加入 1/6 体积的保护液 RNP 进行液化; 也可通过裁剪 1ml 枪头或其他方式吸取 300ul 需液化的样本, 再加入 50ul 核酸保护液 RNP 进行液化; (注: 非粘稠的肺泡灌洗液则无需液化) 最大转速涡旋混匀直至液化完成, 一般 10min 以内即可完成, 然后取 350ul 体积进行第 2 步实验;

6) 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 320ul, 56℃ 温育 3min, 12000 rpm 离心 1min, 去除上层脱蜡剂。在离心管中 300ul 生理盐水, 进行下游实验。

2. 将上述样本处理好后, 取 300ul 样本加入 50ul 核酸保护液 RNP (如果痰液和粘稠肺泡灌洗液, 在前处理时已经加入了保护液 RNP, 此步无需再次加入) 和 300ul 裂解结合液 RLB

和 20ul Proteinase K, 盖紧管盖, 涡旋混匀离心, 将转移到孵育器上 65℃ 孵育 15min (孵育过程中最好将孵育仪设置为边孵育边混匀的程序), 孵育完成后, 放置冷却 1min。

3. 加入 350ul 异丙醇和 20ul 磁珠 RMB, 涡旋振荡混匀 30sec, 静置 90sec, 共 5 个循环, 共 10min。(也可用旋转混匀仪低速混匀 10min)

4. 将离心管置于磁力架上 2min, 待磁珠完全吸附时用移液器小心去除液体。

5. 加入 750ul 洗涤液 RWA (使用前请先检查是否已加入无水乙醇), 涡旋混匀 2min 使磁珠充分悬浮。微离心后将离心管置于磁力架上 1min, 待磁珠完全吸附时用移液器小心去除液体。

6. 加入 750ul 洗涤液 RWA, 涡旋混匀 2min 使磁珠充分悬浮。微离心后将离心管置于磁力架上 1min, 待磁珠完全吸附时用移液器小心去除液体。

7. 加入 750ul 漂洗液 RWB (使用前请先检查是否已加入无水乙醇), 涡旋混匀 2min 使磁珠充分悬浮。微离心后将离心管置于磁力架上 1min, 待磁珠完全吸附时用移液器小心去除液体。

8. 重复步骤 7。

9. 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 3-5min, 直至磁珠表面不反光。

10. 加入 50-100ul RNase-Free ddH₂O, 涡旋混匀 5 min, 简短离心。

11. 将离心管放置于磁力架上静置 2min, 待磁珠完全吸附后小心将核酸溶液转移至新的 EP 管中, 并于 -20℃ 保存。

自动化提取流程

1. 取一洁净的 1.5 mL EP 管, 将前处理好的 300ul 样本加入管中, 并加入 300ul 裂解结合液 RLB 和 50ul 核酸保护液 RNP (如果痰液粘稠, 在前处理时已经加入了保护液 RNP, 此步无需再次加入) 和 20ul Proteinase K, 盖紧管盖。充分涡旋混匀 2 min 后离心 30 sec, 再将样本转移到 65℃ 孵育 15 min。孵育完成后, 微离心后将管中全部样本转移到自动化提取仪中第 1/7 列中进行自动化提取。

2. 在步骤 1 孵育过程中, 按下表提前分装好自动化试剂

位置	试剂
第 1/7 列	350 ul 异丙醇+20 ul 磁珠
第 2/8 列	750 ul 洗涤液 RWA
第 3/9 列	750 ul 洗涤液 RWA
第 4/10 列	750 ul 漂洗液 RWB
第 5/11 列	750 ul 漂洗液 RWB
第 6/12 列	100 ul RNase-Free ddH ₂ O

3. 按照下表进行提前程序设置, 以宝泰仪 BTE-32 为运作程序为例:

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℃长期保存。

位置	磁棒孔位	步骤名称	混匀频率	混匀时间	磁吸次数	晾干时间
第 1/7 列	1	结合	慢	600sec	5	
第 2/8 列	2	洗涤 1	慢	120sec	5	
第 3/9 列	3	洗涤 2	慢	120sec	5	
第 4/10 列	4	漂洗 1	慢	120sec	5	
第 5/11 列	5	漂洗 2	慢	120sec	5	150 sec
第 6/12 列	6	洗脱	慢	300sec	5	
	3	弃磁	中	20sec		