

产品名称：磁珠法病原 DNA 试剂盒

包装规格：24 人份/盒, 48 人份/盒, 72 人份/盒, 96 人份/盒

预期用途：本产品适用于核酸提取富集和纯化步骤，其处理后的产物用于临床体外检测使用。试剂盒适用于从多种临床样本（包括体液、血清、血浆、浸泡液、组织匀浆液、培养液清、组织、痰液等）中提取总 DNA，可直接用于荧光定量 PCR、生物芯片分析、二代测序建库相关实验。

检验原理：本产品基于高结合力的磁性粒子的纯化方式。样品在消化液和蛋白酶 K 作用下裂解消化，DNA/RNA 释放到消化液中，加入磁性粒子和结合液后，DNA 会吸附在磁性粒子的表面，而蛋白质等杂质则不被吸附而去除。吸附了 DNA 的粒子经洗涤液洗涤去除蛋白质和杂质，最后 DNA 被洗脱液 AVE 洗脱。

储存条件及有效期：试剂盒室温 (15~30℃) 运输和储存，有效期为 18 个月，生产日期及失效日期见标签。

适用的样品及要求：肺泡灌洗液、痰液、脑脊液、关节滑液、胸腹水、眼球液、全血、血清、血浆、拭子浸泡液和组织样品、粪便等生物样品。

适用仪器：全自动核酸提取仪

试剂准备及注意事项：

- 装装试剂：使用前洗涤液 MW2，按标签所示，加入适量的无水乙醇进行稀释。瓶装试剂进行自动化提取时，需自备 96 孔板和磁棒套。
- 预封装试剂准备：从试剂盒中取出预封装试剂，颠倒混匀数次使磁珠重悬，轻甩孔板，收集试剂及磁珠至孔板底部，使用前请确认孔位方向并小心撕去铝箔封口膜。
- 本试剂盒不提供但需使用的设备，请自备高效组织细胞样品处理器、全自动核酸提取仪、核酸定量仪、台式高速离心机、移液器等。
- 由于大部分样本核酸浓度太低，建议使用 Qubit 试剂测定核酸浓度，分光光度计得到的核酸浓度以及 A260/280，A260/230 不建议作为参考指标。

产品组份表（预分装）

96 通道核酸提取仪预分装试剂 【注意事项：MLB 的装量控制在 580-600µl，不要超过 600µl。】				
产品编号	预装试剂组份及装量	D6369F-24	D6369F-48	D6369F-96
纯化次数		24 人份	48 人份	96 人份
蛋白酶 K (JP)		0.6 ml	1.2 ml	2.5 ml
消化液 SDS(20%)		1.5 ml	3.0ml	6 ml
研磨管 F		24 个	48 个	96 个
96 磁套		1	1	1
样品板	600 µl 结合液 MLB*	1	1	1
清洗板 1	600 µl 洗涤液 GWP	1	1	1
清洗板 2	600 µl 洗涤液 MW2 30 µl 磁珠液 MP9	1	1	1
清洗板 3	600 µl 洗涤液 MW2	1	1	1
洗脱板	80 µl 洗脱液 AVE	1	1	1

32通道及单条核酸提取仪预分装试剂 【注意事项：MLB 的装量控制在 580-600µl，不要超过 600µl。】				
产品编号	预装试剂组份及装量	D6369-TL-06 (16次/板)	D6369-TL-06 (8次/板)	D6369-S-48 (1次/条)
蛋白酶 K (JP)		2.5 ml	2.5 ml	1.2 ml
研磨管 F		96 个	96 个	48 个
消化液 SDS (20%)		6 ml	6 ml	3.0 ml
DA-Tip		12个	12个	24个
2.0ml 尖底板	1/7 孔:600 µl 结合液 MLB*	6板	12板	48条
	2/8 孔:600 µl 洗涤液 GWP			
	3/9 孔:600 µl 洗涤液 MW2 30µl 磁珠液 MP9			
	4/10 孔:600 µl 洗涤液 MW2			
	5/11 孔:空			
	6/12 孔:80 µl 洗脱液 AVE			

产品组份表（瓶装）

瓶装试剂			
货 号	D6369-00	D6369-01	D6369-02
纯化次数	测试，24 次	72 人份	96 人份
蛋白酶 K（JP）	0.6 ml	1.6 ml	2.5 ml
研磨管 F	24 个	72 个	96 个
Buffer SDS (20%)	1.5 ml	5 ml	6 ml
磁珠液 MP9	1.0 ml	2.5 ml	3.5 ml
结合液 MLB	15 ml	60 ml	60 ml
洗涤液 GWP	20 ml	60 ml	60 ml
洗涤液 MW2	6 ml	25 ml	25 ml
洗脱液 AVE	5 ml	15 ml	15 ml

第一部分： 样品前处理

- 在 2ml 研磨管 F 中，加入 50µl Buffer SDS 和 20µl 蛋白酶 K，加入~0.5ml 血浆、血清、体液、组织匀浆悬液、培养液、细胞悬液、浸泡液、浓缩液等样品，旋紧盖子。
 - 痰液样本：取适量痰液，用 0.1% DTT 溶液(自备)振荡混匀液化 30~60min，7,500rpm (5,400 × g)离心 10 min，倒弃上清液，加入 500µl Buffer PBS 或生理盐水重悬沉淀后进行操作。
 - 大体积的尿液或体液样品：取适量的体液或尿液至离心管中，5000~7500rpm 离心 15 分钟离心富集微生物，倒弃多余的上清液，余下~0.5ml 残液和沉淀，涡旋重悬后进行操作。
 - 组织：取 10~100mg 动物组织，用 1000µl Buffer PBS 或生理盐水进行匀浆，静置 3-5 分钟，取 500µl 上清液进行操作。
 - 粪便样品：取~50mg 粪便至 2ml 离心管中，加入 1500µl Buffer PBS 或生理盐水充分涡旋打散粪便，500 × g 离心 3~5 分钟去除杂质，取 500µl 上清液进行操作。
- 转移至涡旋仪上最高速度涡旋 10 分钟或珠磨仪进行快速珠磨 60~150 秒。
 - 常规珠磨仪：70HZ，运行时间 45s，间隔时间 20s，运行次数 4 次。
 - 净信研磨仪：4500rpm，振荡 45s，间停 20s，振荡 3~4 次。
 - 涡旋仪：带泡棉夹具的涡旋仪，最高速度涡旋 15 分钟。
- 55℃ 温育 10 分钟，13,000 × g 离心 3 分钟，按第 2/3 部分进行操作。

第二部分：手工纯化

- 转移 300µl 上清液至新的离心管中，加入 30µl 磁珠液 MP9 和 500µl 结合液 MLB，颠倒混匀 10-15 次，室温放置 5 分钟，其间颠倒混匀数次。磁力架静置 1 分钟收集磁珠，吸弃溶液，瞬离后吸弃残液。
- 加入 500µl 洗涤液 GWP，涡旋混匀 10~15 秒。磁力架吸磁弃溶液，瞬离弃残液。
- 加入 500µl 洗涤液 MW2，涡旋混匀 10~15 秒，磁力架吸磁弃溶液，瞬离弃残液，重复这一步一次。

- 短暂离心，吸弃所有溶液，空气干燥 10 分钟。
- 加 50~100µl 洗脱液 AVE，55℃ 振荡温育 5~10 分钟溶解 DNA。磁力架静置 1 分钟后，转移 DNA 溶液至新的 1.5ml 离心管中，待用或保留于-20 或-80℃。若上清液中存在磁珠或其它杂质，13000xg 离心 3 分钟，磁力架静置后再转移上清液至新的离心管中。

第三部分：全自动核酸提取仪操作

- 瓶装试剂：根据仪器类型，按组分表把 MLB，GWP/MW2，AVE，MP9 添加到 96 孔板中。
预分装试剂：从试剂盒中取出预封装试剂，混匀使磁珠重悬，轻甩孔板，收集试剂及磁珠至底部，撕去铝箔封口膜。
- 转移 300~350µl 上清液至预分装板的样品板或样品孔中。
- 打开机器，把磁力外套插到仪器中，并把 96 孔板放到仪器中。启动对应程序，约 30 分钟结束。
- 取出 96 孔板和磁力外套，把 DNA 转移至 1.5ml 离心管或在洗脱板上贴上封口膜（自备），把产物保存于-20~-80℃。
附：MagMix 16/32/48/96 提取仪参数，不同仪器进行微调。放入预装板前，注意程序与板位要对应。

序号	名称	孔位	容积	混合时间		等 待		磁 吸 时 间			吸 磁	加 热	
				时间	速度	时 间	位 置	升降	液 面	底 部		板 位	温 度
1	吸磁	3	60	0.2	8	0	0	50	0	0	自动	/	/
2	结合	1	950	8	8	0	0	60	10	10	自动	/	/
3	清洗1	2	600	2	8	0	0	50	0	0	自动	/	/
4	清洗2	3	600	1	8	0	0	50	0	0	自动	/	/
5	清洗3	4	600	1	8	0	0	50	0	0	自动	/	/
6	干燥	4	600	0	0	6	晾干	0	0	0	自动	/	/
7	洗脱	6	100	8	9	0	0	60	0	50	自动	6	55
8	弃磁	3	600	0.3	9	0	0	0	0	0	自动	/	/

产品性能指标

- 外观检查：试剂盒应组份完全，包装外观清洁、无泄漏、无破损；标志、标签字迹清楚。
- 核酸纯度：按说明书提取 1mg 肝脏匀浆液，测量时，OD260/280 值在 1.8-2.0，A260/230 在 1.2-1.8，且 CV 值小于 10%。
- 核酸产量：根据说明书提取 1mg 肝脏匀浆液，测量核酸产量在 2~5µg，且 CV 值小于 15%。
- 核酸完整性：按说明书提取 1mg 肝脏匀浆液，取产物电泳时，DNA 无明显降解。