

# MolPure® Magnetic Pathogen DNA/RNA Kit

## 磁珠法病原 DNA/RNA 提取试剂盒

### 产品简介

MolPure® Magnetic Pathogen DNA/RNA Kit 磁珠法病原 DNA/RNA 提取试剂盒适用于从生物液体样本如宫颈拭子保护液 (建议不使用含高浓度胍盐保护液)、全血、血浆、痰液、肺泡灌洗液、脑脊液等样本中提取病原微生物核酸, 该方法采用磁珠纯化技术, 提取过程中无需使用有毒的酚氯仿抽提, 安全无毒且快捷。该方法采用化学法与机械法相结合的裂解方式, 纯化的核酸包括病毒、支原体、细菌、真菌等微生物的核酸, 得到的产物可直接用于 PCR、qPCR、宏基因组文库构建、DNA/RNA 共建库等实验。配合磁珠法自动化提取仪器使用, 可实现核酸的高通量提取。

### 产品信息

货号	18306ES24/18306ES48
规格	24T/48T

### 组分信息

类别	组分编号	组分名称	18306ES24	18306ES48
Part I	18306-A	蛋白酶 K	0.7 mL/支×1	1.1 mL/支×1
Part II	18306-B	裂解增强液	4 mL/瓶×1	5 mL/瓶×1
	18306-C	研磨管	0.4 g/支×24	0.4 g/支×48
	18306-D	裂解结合液	20 mL/瓶×1	33 mL/瓶×1
	18306-E	磁珠悬浮液	0.7 mL/支×1	1.1 mL/支×1
	18306-F	洗涤液 A	20 mL/瓶×1	40 mL/瓶×1
	18306-G	洗涤液 B	40 mL/瓶×1	80 mL/瓶×1
	18306-H	洗脱液	4 mL/瓶×1	6 mL/瓶×1

### 储存条件

Part I, 18306-A 蛋白酶 K, 2~8°C 保存, 室温运输, 有效期为 12 个月。

Part II, 室温保存, 室温运输, 有效期为 12 个月。

### 注意事项

1. 本试剂盒中的多种缓冲液含有胍盐, 为了您的安全和健康, 请穿实验服并佩戴一次性手套操作。并按照安全标准预防措施来处理。不要让缓冲液接触到皮肤、眼睛以及黏膜, 如果确实发生, 请立即用大量清水清洗并就医。
2. 如果溶液出现沉淀, 需要 30°C 水浴至沉淀完全溶解后方可使用。
3. 如果裂解增强液出现沉淀, 需要 60°C 水浴至沉淀完全溶解后使用。
4. 如果磁珠悬浮液冻结, 请勿使用。
5. 本试剂盒中的多种缓冲液含胍盐, 请勿用氧化性消毒剂如次氯酸钠进行处理, 否则会释放有毒气体, 须按医疗废物进行处理。
6. 洗脱时可能存在磁珠残留, 吸取样本时应尽量避免吸入磁珠。

## 样本说明

1. 适用标本类型：宫颈拭子、全血、血浆、痰液、肺泡灌洗液、脑脊液等样本。
2. 标本保存和运输：标本可立即用于测试，也可以保存于-70°C或更低温度待测，保存期为 6 个月，应避免反复冻融。标本运输采用冷链运输。
3. 冻融要求：速冻速融，避免反复冻融。
4. 拭子类保护液可能含有高浓度胍盐，会与**裂解增强液**反应导致提取效果不佳；如确需提取该类样本，无需加入**裂解增强液**，步骤 1 处理完后，按照步骤 4 继续操作。
5. 全血样本：如脐带血，骨髓血这些细胞含量高的全血，提取过程中可能会出现磁珠残留或颜色残留，建议将样本用生理盐水或 PBS 稀释后再进行核酸提取。
6. 痰液样本：提取过程中容易出现磁珠残留，建议将样本用生理盐水或 PBS 稀释后再进行核酸提取。

## 操作步骤

### 实验前检查溶液是否有沉淀，磁珠是否能重悬。

1. 根据不同样本类型选择对应步骤进行处理

A. 病毒、支原体、衣原体类核酸提取：取 200~300  $\mu\text{L}$  液体样本、20  $\mu\text{L}$  **蛋白酶 K** 至离心管中，加入 600  $\mu\text{L}$  **裂解结合液**，按照步骤 4 操作提取，无需进行前处理。

B. 非真菌类、易裂解微生物核酸提取：取 350~400  $\mu\text{L}$  液体样本至**研磨管**中，加入 40  $\mu\text{L}$  **裂解增强液**、20  $\mu\text{L}$  **蛋白酶 K**，高速涡旋 1 min 混匀。

备注：易裂解细菌：革兰氏阴性菌如大肠杆菌、流感嗜血杆菌、嗜肺军团菌、百日咳杆菌、霍乱弧菌等。

C. 真菌类、难裂解微生物核酸提取：取 350~400  $\mu\text{L}$  液体样本至**研磨管**中，再加入 40  $\mu\text{L}$  **裂解增强液**、20  $\mu\text{L}$  **蛋白酶 K**，在涡旋仪最大转速涡旋或转移至震荡破碎仪高速研磨样本 10 min（不同品牌震荡破碎仪，请选择仪器推荐程序）。

备注：真菌：白假丝酵母菌、热带假丝酵母菌、黄曲霉、青霉菌。难裂解细菌：革兰氏阳性菌如葡萄球菌、霉菌、肺炎链球菌等。

2. 转至水浴锅或干式恒温仪中，70°C温浴 20 min 进一步裂解样本，裂解后取出涡旋混匀 30 s。

3. 若裂解后溶液出现浑浊，10,000 $\times g$  离心 1 min；若裂解后溶液清澈透明，瞬时离心 30 s 即可。

备注：如木霉菌等真菌离心后上清有颜色，可联系内部搭配沉淀液 SPS，按以下流程操作：取 300  $\mu\text{L}$  离心后上清到新的离心管中，加入 100  $\mu\text{L}$  沉淀液 SPS 混匀后，4°C冰浴 10 min，10,000 $\times g$  离心 3 min。

4. 吸取 200~300  $\mu\text{L}$  上清溶液至新的离心管，加入 600  $\mu\text{L}$  **裂解结合液**，小心吸取，避免吸到沉淀或玻璃珠。

5. 加入 20  $\mu\text{L}$  **磁珠悬浮液**，涡旋混匀 30 s，振荡或涡旋 5~7 min 使磁珠吸附核酸。

6. 转移至磁力架上进行磁分离至溶液澄清，吸弃溶液。

7. 加入 700  $\mu\text{L}$  **洗涤液 A**，涡旋 30 s 后转移至磁力架上吸附至溶液澄清，吸弃溶液。

8. 加入 700  $\mu\text{L}$  **洗涤液 B**，涡旋 30 s 打散磁珠后转至磁力架上进行磁分离至溶液澄清，吸弃溶液。
9. 再次加入 700  $\mu\text{L}$  **洗涤液 B**，涡旋 30 s 打散磁珠后转至磁力架上进行磁分离至溶液澄清，吸弃溶液。
10. 短暂离心收集管壁上液滴，转移至磁力架上待澄清，吸尽残液。空气干燥 3-5 min。
11. 加入 30~100  $\mu\text{L}$  **洗脱液**，高速涡旋 2~3 min 打散磁珠。60 $^{\circ}\text{C}$  振荡温育 5 min。若无振荡混匀器，其间涡旋混匀 2~3 次。

注意：乙醇残留会抑制后续的酶反应，所以晾干时要确保乙醇挥发干净。切勿干燥过久，以免影响后续洗脱效果。

12. 瞬时离心收集管盖液滴至管中，转移至磁力架，直至磁珠完全吸附后，小心将液体转移至新的离心管，即得到核酸溶液。
13. 核酸溶液可置于-20 $^{\circ}\text{C}$  短期保存，-80 $^{\circ}\text{C}$  长期保存。