

产品组分

组分名称	组分编号	规格-1	规格-2	保存条件
		20 RXN	100 RXN	
Mag Buffer RA	RM30266	9 mL	55 mL	RT
Mag Buffer RB	RM30265	2 mL	12 mL	RT
Mag Buffer RC	RM30267	2 mL	12 mL	RT
Mag Buffer RL2	RM30264	13 mL	65 mL	RT
Mag Buffer WG1 & Beads	RM30268	13 mL	65 mL	RT
Mag Buffer WG2	RM30269	26 mL	2 × 65 mL	RT
Mag Buffer EB	RM30229	4 mL	20 mL	RT
RNase A (10 mg/mL)	RM30304	200 µL	1.2 mL	-20°C
Extraction Tube (Zirconia Beads)	RM30554	20 pk	5 × 20 pk	RT

产品说明

本试剂盒是基于生物纳米磁珠的核酸提取试剂盒，主要原理是利用功能性生物磁珠表面的功能基团，将核酸从样品裂解产物中富集至磁珠表面，再利用磁性分离装置对磁珠进行分离，从而快速分离纯化核酸。整个过程不需用到酚、氯仿等有机试剂，安全无毒，并且利用具有顺磁性的生物纳米磁珠，适合高通量自动化提取。

保存温度

RNase A 置于-20°C保存，试剂盒其他组分置于室温（10~30°C）保存。

适用样本

适用于 100-500 mg 土壤和环境样本（如废水、粪便、淤泥、垃圾、石膏、食物、真菌、植物、根、酵母、沉积物等）的基因组 DNA 提取。

注意事项

1. 样本提取应在规定的实验场所进行，穿戴防护衣物、一次性手套和口罩；有直接接触过样本的物品应进行消毒后丢弃或再次使用。
2. 除非另有说明，所有的操作均在室温（10-30°C）完成。
3. 实验前应对全自动核酸提取仪进行紫外线消毒，并用 75%乙醇定期清理实验台和样本提取专用移液器。
4. Mag Buffer RA、Mag Buffer RB 和 Mag Buffer RL2 可能会有沉淀析出，属正常现象，将其置于 42°C烘箱或水浴中，待沉淀溶解后混匀再用。
5. 手动提取清洗过程，每一步的清洗液都必须吸取干净，如果管壁有液珠，可以轻拍磁力架，让液滴流到制备管底部，再吸取干净。
6. 手动提取时，磁珠干燥放置时间不宜过长，过度干燥会影响提取结果。

自动提取

1. 打开仪器电源，待仪器完成自检后，按下表所示，设置仪器参数。

表 1. S-96 全自动核酸提取仪程序

步骤	一	二	三	四	五	六	七
工位	2	1	2	3	4	6	2
等待时间	0	0	0	0	0	2 min	0
混合时间	30 s	7 min	4 min	1 min	1 min	3 min	30 s
混合速度	6	6	6	6	6	6	6
吸磁时间	1 min	1 min 30 s	1 min	1 min	1 min	1 min 30 s	0
裂解温度：25°C			洗脱温度：65°C				4°C保存

表 2. S-48/S-16 全自动核酸提取仪程序程序

步骤	一	二	三	四	五	六	七
工位	2	1	2	3	4	5	2
等待时间	00:00:00	00:00:00	00:00:00	00:00:00	00:00:00	00:02:00	00:00:00
混合模式	4	4	4	4	4	3	4
混合时间	00:00:30	00:07:00	00:04:00	00:01:00	00:01:00	00:03:00	00:00:30
是否暂停	否	否	否	否	否	否	否
吸磁时间	00:01:00	00:01:30	00:01:00	00:01:00	00:01:00	00:01:30	00:00:00
体积	600 μ L	900 μ L	600 μ L	600 μ L	600 μ L	100 μ L	600 μ L
温度	--	25°C	--	--	--	65°C	--

表 3. N-96 全自动核酸提取仪

步骤	一	二	三	四	五	六	七
工位	2	1	2	3	4	6	2
等待时间	00:00:00	00:00:00	00:00:00	00:00:00	00:00:00	00:02:00	00:00:00
混合模式	4	4	4	4	4	3	4
混合时间	00:00:30	00:07:00	00:04:00	00:01:00	00:01:00	00:03:00	00:00:30
是否暂停	否	否	否	否	否	否	否
吸磁时间	00:01:00	00:01:30	00:01:00	00:01:00	00:01:00	00:01:30	00:00:00
体积	600 μ L	900 μ L	600 μ L	600 μ L	600 μ L	100 μ L	600 μ L
温度	--	25°C	--	--	--	65°C	--

2. (预分装试剂省略此步) 非预分装试剂请预先将各组分(使用前务必充分摇匀)按照下表进行分装并做好标记:

组分	规格装量	96 RXN-工位	16 RXN-布板
Mag Buffer RL2	600 μ L/孔	工位 1	1/7 列
Mag Buffer WG1 & Beads	600 μ L/孔	工位 2	2/8 列
Mag Buffer WG2	600 μ L/孔	工位 3	3/9 列
Mag Buffer WG2	600 μ L/孔	工位 4	4/10 列
Mag Buffer EB	100 μ L/孔	工位 6	5/11 列

3. 在研磨管 Extraction Tube 中加入 400 μ L Mag Buffer RA、60 μ L Mag Buffer RB 和 10 μ L RNase A。

注: Mag Buffer RA 的体积可适当调整, 保存液中的粪便样本可以减少至 300 μ L, 固体粪便或干燥土壤可以增加至 500 μ L。

4. 样本前处理:

细菌、真菌菌液: 取 100-200 μ L 菌体培养液至研磨管 Extraction Tube 中; 对于 200-2000 μ L 样本, 转移样本至离心管中, 12,000 rpm 离心 2 min, 弃掉大部分上清, 仅保留 200 μ L 以内液体重悬菌体。

水体滤膜: 将滤膜卷起, 剪成数段, 加入研磨管 Extraction Tube 中。

土壤和环境样本: 直接加入研磨管 Extraction Tube 中。

注: 加入研磨管内的体积不得超过研磨管高度的 2/3 (大约在防滑环下部)。

5. 涡旋混匀, 使用研磨仪研磨 60 Hz 30 s, 等待 10 s, 运行次数 3 次。

注: 对于比较难破碎的样本可以适当增加研磨次数到 4-6 次; 若无研磨仪, 在涡旋仪上涡旋振荡 15 min。

6. 研磨完后, 转移研磨管至金属浴或水浴锅中, 70°C 温浴 10 min。

注: 对于特别难处理的样本可以将温度提高到 90°C。

7. 取出研磨管, 瞬时离心 5-10 s, 加入 80 μ L Mag Buffer RC, 涡旋 30 s 混匀, 12,000 rpm 离心 4 min, 转移上清 (大约 300 μ L) 至 Mag Buffer RL2 深孔板的样孔中 (S-48/S-16 仪器, 取上清转移至深孔板的第 1、7 列), 吸取时应尽量避免吸到沉淀。

8. 将 Mag Buffer RL2 的深孔板放至工位 1 上, 将 Mag Buffer WG1 & Beads (使用前先颠倒混匀数次使磁珠重悬, 再轻甩孔板使溶液均集中到孔板底部, 小心撕去封口铝膜, 避免孔板振动, 液体溅出)、Mag Buffer WG2、Mag Buffer WG2、以及 Mag Buffer EB 的深孔板分别置于工位 2/3/4/6 工位上, 运行程序。
9. 程序结束后, 仪器会自动停止。洗脱液 Mag Buffer EB 对应的深孔板内为提取的核酸样品 (S-48/S-16 仪器、深孔板第 5、11 列内为提取的核酸样品), 该样品可以直接用于下游实验。若要长时间保存, 可以封装转移至新的容器中, 于 -20°C 冰箱保存。

手动提取

1. 在研磨管 Extraction Tube 中加入 400 μ L Mag Buffer RA、60 μ L Mag Buffer RB 和 10 μ L RNase A。
注: Mag Buffer RA 的体积可适当调整, 保存液中的粪便样本可以减少至 300 μ L, 固体粪便或干燥土壤可以增加至 500 μ L。
2. 样本前处理:
细菌、真菌菌液: 取 100-200 μ L 菌体培养液至研磨管 Extraction Tube 中; 对于 200-2000 μ L 样本, 转移样本至离心管中, 12,000 rpm 离心 2 min, 弃掉大部分上清, 仅保留 200 μ L 以内液体重悬菌体。
水体滤膜: 将滤膜卷起, 剪成数段, 加入研磨管 Extraction Tube 中。
土壤和环境样本: 直接加入研磨管 Extraction Tube 中。
注: 加入研磨管内的体积不得超过研磨管高度的 2/3 (大约在防滑环下部)。
3. 涡旋混匀, 使用研磨仪研磨 60 Hz 30 s, 等待 10 s, 运行次数 3 次。
注: 对于比较难破碎的样本可以适当增加研磨次数到 4-6 次; 若无研磨仪, 在涡旋仪上涡旋振荡 15 min。
4. 研磨完后, 转移研磨管至金属浴或水浴锅中, 70°C 温浴 10 min。
注: 对于特别难处理的样本可以将温度提高到 90°C。
5. 取出研磨管, 瞬时离心 5-10 s, 加入 80 μ L Mag Buffer RC, 涡旋 30 s 混匀, 12,000 rpm 离心 4 min, 转移上清 (大约 300 μ L) 至 1.5 mL 干净离心管中, 吸取时应尽量避免吸到沉淀。
6. 转移 600 μ L Mag Buffer WG1 & Beads 至另一干净的 1.5 mL 离心管中 (转移前先涡旋混匀 Mag Buffer WG1 & Beads), 将离心管放置磁力架上磁吸 1 min, 转移上清至另一干净的 1.5 mL 离心管中备用, 将步骤 5 中的液体转移至剩下磁珠的离心管中。
7. 加入 600 μ L Mag Buffer RL2, 室温涡旋振荡结合 10 min。
8. 将离心管放置磁力架上磁吸 1 min, 弃上清, 加入步骤 6 中备用液体, 涡旋混匀 5 min 后再置于磁力架上, 静置 1 min, 期间反复颠倒磁力架 5~6 次, 磁珠完全吸附后, 小心用移液器吸去管盖和管中液体。
9. 取下离心管, 加入 600 μ L Mag Buffer WG2, 将离心管振荡混匀 2 min 后再置于磁力架上, 静置 1 min, 期间反复颠倒磁力架 5~6 次, 磁珠完全吸附后, 小心用移液器吸去管盖和管中液体。
10. 按照步骤 9 的方法重复一次。
11. 打开管盖, 室温干燥 3-5 min 至乙醇挥发完全 (乙醇残留和过分干燥均会影响下一步核酸洗脱效率)。
12. 取下离心管, 加入 100 μ L 洗脱液 Mag Buffer EB, 振荡混匀使磁珠完全浸没在洗脱液中, 再置于 65°C 孵育 5 min, 期间振荡混匀 3 次。
13. 孵育结束后, 将离心管置于磁力架上, 静置 1 min, 待磁珠完全吸附后, 小心用移液器将液体转移至新的干净的离心管中 (切勿将磁珠吸出), 所得溶液即为核酸样品。该样品可以直接用于下游实验, 若要长时间保存, 可以封装转移至新的容器中, 于 -20°C 冰箱保存。