

产品组分

组分名称	组分编号	规格
		100 RXN
Mag Buffer PTA	RM30519	25 mL
Mag Buffer RLE	RM30402	65 mL
Mag Buffer WH1	RM30403	2 × 90 mL
Mag Buffer WH2	RM30546	25 mL
Mag Buffer WH3 & Beads	RM30404	90 mL
Mag Buffer ED	RM30405	20 mL
Proteinase K(20 mg/mL)	RM30270	2 × 2 mL

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

室温 (10 ~ 30°C) 保存。

适用样本

适用于全血、唾液、口腔拭子、细胞以及组织。

样本 1 天以内提取可在 2-8°C 条件下贮存;

样本 1 周以内提取可在 -20°C 条件下贮存;

样本 1 周以上提取需在 -80°C 条件下冻存, 且避免反复冻融。

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. 实验前应对自动核酸提取仪进行紫外线消毒, 并定期清理实验台和样本提取专用移液器。
3. 接触试剂的材料均要求干燥、洁净, 以防止污染。
4. 装有磁珠的深孔板或试剂瓶使用前一定要充分摇匀。
5. 血液样本提取, 需要将血液恢复至室温后进行试验。
6. 对于组织样本, 如果加入 RNase A 混合 2 min 还有 RNA 残留, 可以将混合时间延长至 10 min。
7. Mag Buffer RLE、Mag Buffer WH1 若有沉淀, 可在室温中重新溶解, 摇匀后使用。

自动提取

1. 打开仪器电源，待仪器完成自检后，按对应的仪器型号设置参数。

表 1. S-16 全自动核酸提取仪程序

步骤	一	二	三	四	五	六	七	八
工位	6	1	2	3	4	6	5	6
等待时间	0:00:00	0:00:00	0:00:00	0:00:00	0:00:00	0:00:00	0:02:00	0:00:00
混合模式	3	3	3	3	3	3	3	3
混合时间	0:00:30	0:10:00 (0:15:00) ^a	0:04:00 (0:06:00) ^a	0:04:00 (0:06:00) ^a	0:02:00 (0:04:00) ^a	0:02:00	0:08:00	0:00:30
是否暂停	否	否	否	否	否	否	否	否
吸磁时间	0:00:30	0:02:00	0:00:30	0:00:30	0:00:30	0:00:30	0:02:00	0:00:00
体积 (μL)	800	800	800	800	200	800	100	800
温度	/	95°C	/	/	/	/	75°C	/

a. 为组织和骨髓血提取程序

表 2. S-48 全自动核酸提取仪程序

步骤	一	二	三	四	五	六	七	八
工位	6	1	2	3	4	6	5	6
等待时间	0:00:00	0:00:00	0:00:00	0:00:00	0:00:00	0:00:00	0:02:00	0:00:00
混合模式	4	4	4	4	4	4	4	4
混合时间	0:00:30	0:10:00 (0:15:00) ^a	0:04:00 (0:06:00) ^a	0:04:00 (0:06:00) ^a	0:02:00 (0:04:00) ^a	0:02:00	0:08:00	0:00:30
是否暂停	否	否	否	否	否	否	否	否
吸磁时间	0:00:30	0:02:00	0:00:30	0:00:30	0:00:30	0:00:30	0:02:00	0:00:00
体积 (μL)	800	800	800	800	200	800	100	800
温度	/	95°C	/	/	/	/	75°C	/

a. 为组织和骨髓血提取程序

表 3. S-96 全自动核酸提取仪程序

步骤	一	二	三	四	五	六	七	八
工位	5	1	2	3	4	5	6	5
等待时间	0:00:00	0:00:00	0:00:00	0:00:00	0:00:00	0:00:00	0:02:00	0:00:00
混合模式	6	6	6	6	6	6	6	6
混合时间	0:00:30	0:10:00 (0:15:00) ^a	0:04:00 (0:06:00) ^a	0:04:00 (0:06:00) ^a	0:02:00 (0:04:00) ^a	0:02:00	0:08:00	0:00:30
是否暂停	否	否	否	否	否	否	否	否
吸磁时间	0:00:30	0:02:00	0:00:30	0:00:30	0:00:30	0:00:30	0:02:00	0:00:00
温度	/	95°C	/	/	/	/	75°C	/

a. 为组织和骨髓血提取程序

表 4. N-96 全自动核酸提取仪程序

步骤	一	二	三	四	五	六	七	八
工位	5	1	2	3	4	5	6	5
等待时间	0:00:00	0:00:00	0:00:00	0:00:00	0:00:00	0:00:00	0:02:00	0:00:00
混合模式	4	4	4	4	4	4	4	4
混合时间	0:00:30	0:10:00 (0:15:00) ^a	0:04:00 (0:06:00) ^a	0:04:00 (0:06:00) ^a	0:02:00 (0:04:00) ^a	0:02:00	0:08:00	0:00:30
是否暂停	否	否	否	否	否	否	否	否
吸磁时间	0:00:30	0:02:00	0:00:30	0:00:30	0:00:30	0:00:30	0:02:00	0:00:00
体积 (μL)	800	800	800	800	200	800	100	800
温度	/	95°C	/	/	/	/	75°C	/

a. 为组织和骨髓血提取程序

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

表 5. 不同试剂分装量及对应布板位/工位

组分	装量规格	16 RXN - 布板	96 RXN - 工位
Mag Buffer RLE	600 μL/孔	1/7 列	工位 1
Mag Buffer WH1	800 μL/孔	2/8 列	工位 2
Mag Buffer WH1	800 μL/孔	3/9 列	工位 3
Mag Buffer WH2	200 μL/孔	4/10 列	工位 4
Mag Buffer WH3 & Beads	800 μL/孔	6/12 列	工位 5
Mag Buffer ED	100 μL/孔	5/11 列	工位 6

A. 全血、唾液、口腔拭子样本

3A. 将样本加入至 **Mag Buffer RLE** 对应的孔位中 (**S-16/S-48 提取仪: 第 1/7 列; S-96/N-96 提取仪: 工位 1**)。

- 血液样本: 将新鲜抗凝血上下颠倒混匀, 常规样本建议取 100-300 μL 进行提取; 老鼠血液建议取 50-100 μL 进行提取; 骨髓血建议取 100-200 μL 进行提取。
- 血卡样本: 取 1-5 片直径为 6 mm 的血卡样本, 加入 300 μL 的 **Mag Buffer PTA**, 再加 40 μL **Proteinase K (20 mg/mL)**, 65°C 孵育 45 min, 孵育结束后, 12,000 rpm 离心 2 min, 转移上清进行实验。
- 唾液/血细胞样本: 将样本上下颠倒混匀, 建议取 100-300 μL 进行提取。
- 口腔拭子: 将保存于保护液中的口腔拭子充分振荡混匀, 建议取 300 μL 保护液进行提取。若为干拭子, 将口腔干拭子转移到 1.5 mL 的离心管中, 加入 500 μL 的 **Mag Buffer PTA**, 再加 40 μL **Proteinase K (20 mg/mL)**, 65°C 孵育 10 min, 孵育结束后, 12,000 rpm 离心 2 min, 转移上清 300 μL 进行实验。

4A. 向 **Mag Buffer RLE** 对应的孔位中 (**S-16/S-48 提取仪: 第 1/7 列; S-96/N-96 提取仪: 工位 1**) 加入 40 μL **Proteinase K (20 mg/mL)** (血卡和干拭子样本除外)。对于老鼠血液样本, 如需要去除 RNA, 还需要在第 4/10 列 (**S-16/S-48 提取仪**) 或工位 4 (**S-96/N-96 提取仪**) 中加入 10 μL **RNase A (10 mg/mL)**。对于骨髓血样本, 如需得到更好的效果, 需在第 4/10 列 (**S-16/S-48 提取仪**) 或工位 4 (**S-96/N-96 提取仪**) 中加入 400 μL **Extraction Enhancer** (另购); 如需要去除 RNA, 还需要在第 4/10 列 (**S-16/S-48 提取仪**) 或工位 4 (**S-96/N-96 提取仪**) 中加入 20 μL **RNase A (10 mg/mL)**。

5A. 根据装量说明及工位布板将不同组分置于仪器对应的工位处。

6A. 程序结束后, 仪器会自动停止, **第 5/11 列孔 (S-16/S-48 提取仪) 或工位 6 的 96 孔板 (S-96/N-96 提取仪)** 中产物即为提取的核酸样品。

B. 细胞/组织样本

3B. 样本前处理

- 羊水: 取 3-5 mL 样本至 5 mL 离心管中, 4,000 rpm 离心 5 min, 去除上清, 加入 200 μL **Mag Buffer PTA**, 用移液器吹打混匀。

- b. 细胞：转移体积不超过 200 μL 、总量不超过 5×10^6 个的细胞悬液至 **Mag Buffer RLE** 对应的孔位中（**S-16/S-48 提取仪：第 1/7 列；S-96/N-96 提取仪：工位 1**）（若体积超过 200 μL ，需要 4,000 rpm 离心 5 min 进行富集）。贴壁细胞需要先胰酶进行脱壁，再按照悬浮细胞富集处理。
- c. 组织样本：小鼠心、肝、肺、肾、脑推荐上样量为 10 mg，脾为 5 mg；鱼卵、鱼肉和猪耳朵推荐上样量为 20 mg。组织适当剪碎后，置于 1.5 mL 离心管中，向离心管中加入 200 μL **Mag Buffer PTA**、40 μL **Proteinase K (20 mg/mL)** 和一颗 3 mm 氧化锆珠，再用组织破碎机破碎（推荐参数：60 Hz、运行 45 s，研磨 3 次）；破碎完成后将离心管置于振荡混匀仪上，65°C 孵育 30 min，猪耳样本需延长到 60 min，直至组织块完全溶解后，12,000 rpm 离心 2 min，转移上清进行实验。
- d. 鼠尾组织：
- a) 快速前处理：取适量鼠尾样本（大鼠 0.3 cm，小鼠 0.6 cm，适当剪短以保证能与 **Mag Buffer PTA** 充分接触）置于 96 孔深孔板中，再加入 200 μL **Mag Buffer PTA** 和 40 μL **Proteinase K (20 mg/mL)**，封上封板膜或硅胶软膜；将深孔板放入 60°C 的摇床中，200 rpm 振荡混匀 3 小时。
- b) 常规前处理：取适量鼠尾样本（大鼠 0.3 cm，小鼠 0.6 cm）置于 1.5 mL 离心管中，向离心管中加入 200 μL **Mag Buffer PTA** 和 40 μL **Proteinase K (20 mg/mL)**，按照组织样本进行研磨后 65°C 孵育 30 min 或者不用研磨直接 56°C 过夜孵育处理，孵育后 12,000 rpm 离心 2 min，转移上清进行实验。
- 4B. 将上述处理好的样本转移至 **Mag Buffer RLE** 对应的孔位中（**S-16/S-48 提取仪：第 1/7 列；S-96/N-96 提取仪：工位 1**），对于经过快速前处理的鼠尾组织样本，在处理好的样本深孔板中加入对应裂解液 **Mag Buffer RLE** 即可。如需去除 RNA，在第 4/10 列（**S-16/S-48 提取仪**）或工位 4 对应的 96 孔板中（**S-96/N-96 提取仪**）加入 20 μL **RNase A (10 mg/mL)**。对于羊水/细胞样本，还需在 **Mag Buffer RLE** 对应的孔位中（**S-16/S-48 提取仪：第 1/7 列；S-96/N-96 提取仪：工位 1**）添加 40 μL **Proteinase K (20 mg/mL)**。
- 5B. 根据装量说明及工位布板将不同组分置于仪器对应的工位处。
- 6B. 程序结束后，仪器会自动停止，**第 5/11 列孔（S-16/S-48 提取仪）或工位 6 的 96 孔板（S-96/N-96 提取仪）**中产物即为提取的核酸样品。

手动提取

- 取 800 μL **Mag Buffer WH3 & Beads** 至 1.5 mL 离心管中（注意：为了确保磁珠彻底重悬，请充分振荡混匀后立即吸取），置于磁力架上静置 1 min 后将全部上清吸出（上清即为 **Mag Buffer WH3**），**Mag Buffer WH3** 和磁珠保存待用。
 - 样本前处理：不同样本前处理方式见自动提取。
 - 将前处理好的样本转移至步骤 1 待用的磁珠中，再加入 600 μL **Mag Buffer RLE**，对于全血/唾液/口腔拭子/羊水/细胞样本还需添加 40 μL **Proteinase K (20 mg/mL)**，振荡混匀，置于 55°C 裂解 10 min*（期间颠倒混匀数次）。
- 注：对于组织和骨髓血样本，需将 55°C 裂解时间延长至 15 min。
- 将离心管置于磁力架上，静置 1 min，期间反复颠倒磁力架 5-6 次，使可能残存在管盖上的磁珠被磁力架吸附住，小心用移液器吸去管盖和管中的液体。
 - 取下离心管，加入 800 μL **Mag Buffer WH1**，将离心管振荡混匀 4 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。
- 注：对于组织和骨髓血样本，需将振荡混匀时间延长至 6 min。
- 重复步骤 5 一次。
 - 加入 200 μL **Mag Buffer WH2***，如需去除 RNA，部分样本还需要加入 **RNase A**（具体加入量参照自动提取样本处理），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。
- 注：*对于骨髓血样本，还需加入 400 μL **Extraction Enhancer**（另购）；
- **对于组织和骨髓血样本，需将振荡混匀时间延长至 4 min。
- 加入 800 μL 步骤 1 中待用的 **Mag Buffer WH3**，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。
 - 打开管盖，室温干燥 2 min 至乙醇挥发完全（乙醇残留和过干均会影响下一步核酸洗脱效率）。

10. 取下离心管，加入 100 μ L **Mag Buffer ED**，振荡混匀使磁珠完全浸没在洗脱液中，再置于 65°C 孵育 10 min，期间振荡混匀 3 次。
11. 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，请置于 -20°C 冰箱。