

产品组分

● 适用于 S-16/S-48 自动核酸提取仪

组分名称	组分编号	规格
		16 RXN
Mag Buffer PTB	RM30591	9 mL
Extraction Tube (Zirconia Beads)	RM30554	16 pk
AFTMag Quick Pathogen DNA Extraction Reagents (Prepackaged)	RM30592	16 RXN
Proteinase K(20 mg/mL)	RM30270	400 µL
8-Well Mag-rod Sleeve	RM30277	2 pk

● 适用于 S-96/N-96 自动核酸提取仪

组分名称	组分编号	规格
		96 RXN
Mag Buffer PTB	RM30591	45 mL
Extraction Tube (Zirconia Beads)	RM30554	96 pk
Mag Buffer RLF	RM30604	96 RXN
Mag Buffer WS1&Beads	RM30605	96 RXN
Mag Buffer WS2	RM30606	2 × 96 RXN
Mag Buffer EB	RM30229	96 RXN
Proteinase K(20 mg/mL)	RM30270	2 mL
96-Well Mag-rod Sleeve	RM30283	1 pk

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℃）保存。

适用样本

适用于从拭子、血液以及培养物等样本中提取病毒、细菌、真菌的基因组 DNA。

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℃）完成。
3. 实验前应对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. 接触试剂的材料均要求干燥、洁净，以防止污染。
5. Mag Buffer PTB 和 Mag Buffer RLF 可能会有沉淀析出，属正常现象，将其置于 42℃烘箱或水浴中，待沉淀溶解后混匀再用。
6. 对于难破壁的革兰氏阴性菌和革兰氏阳性菌，需自备溶菌酶（50 mg/mL）。

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程序参数（见表 2-4）。
 2. 预分装试剂：轻甩孔板，使试剂和磁珠集中到孔板底部（也可用孔板离心机，500 × rpm 离心 1 min）。
- 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。

表 1. 不同试剂分装量及对应布板位/工位

组分	试剂分装量	16 RXN-布板	96 RXN-工位
Mag Buffer RLF	600 μL/孔	1/7 列	工位 1
Mag Buffer WS1&Beads	600 μL/孔	2/8 列	工位 2
Mag Buffer WS2	600 μL/孔	3/9 列	工位 3
Mag Buffer WS2	600 μL/孔	4/10 列	工位 4
Mag Buffer EB	100 μL/孔	5/11 列	工位 6

3. 样本前处理

(1) 细菌培养物：

- a. 取 1-3 mL 过夜培养且处于对数生长期的菌液至离心管中，12,000 rpm 离心 2 min，弃掉全部上清。
- b. 在离心管中加入 400 μL **Mag Buffer PTB**，振荡混匀至无明显菌块。对于难破壁的革兰氏阴性菌和革兰氏阳性菌，还需要加入 20 μL 溶菌酶（50 mg/mL），37°C 1,000 rpm 振荡 30 min（若无振荡恒温金属浴，可在加热过程中涡旋 5 次）。
注：若仅使用溶菌酶进行消化，此步变为：加入 300 μL PBS 和 20 μL 溶菌酶（50 mg/mL）重悬菌体，37°C 1,000 rpm 振荡 1-2 h（若无振荡恒温金属浴，可在加热过程中涡旋 10 次）；
- c. 向离心管中加入 20 μL **Proteinase K** 涡旋混匀，然后全部转移至研磨管中进行研磨，设置研磨参数：频率 70 Hz，30 s 开/10 s 停。革兰氏阴性菌（G⁻）研磨 2 次，革兰氏阳性菌（G⁺）研磨 5 次（对于比较难破碎的菌可以适当增加研磨次数；若无研磨仪，G⁻在涡旋仪上涡旋振荡 5 min，G⁺在涡旋仪上涡旋振荡 10-15 min）。
注：若仅使用溶菌酶进行消化，此步变为：向反应完的离心管中加入 20 μL Proteinase K，涡旋混匀。

(2) 真菌培养物

- a. 取 1-3 mL 过夜培养且处于对数生长期的真菌菌液至离心管中，12,000 rpm 离心 2 min，弃掉全部上清。
- b. 在离心管中加入 400 μL **Mag Buffer PTB** 和 20 μL **Proteinase K**，涡旋混匀后全部转移至研磨管中，设置研磨参数：频率 70 Hz，30 s 开/10 s 停，研磨 5 次（对于较难破碎的菌可适当增加研磨次数到 8-10 次；若无研磨仪，在涡旋仪上涡旋振荡 10-15 min）。
注：大型真菌取 100 mg 子实体液氮磨成粉，或取 20 mg 的真菌粉末至 2 mL 的离心管中，分别加入 300 μL Mag Buffer PTB 和 20 μL Proteinase K 混匀后再进行后续实验。

(3) 拭子和血液样本

- a. 在离心管中加入 200 μL 样本（若为干拭子，先加入 400 μL Mag Buffer PTB 重悬即可），再加入 200 μL **Mag Buffer PTB** 和 20 μL **Proteinase K**，涡旋混匀后全部转移至研磨管中，设置研磨参数：频率 70 Hz，30 s 开/10 s 停，研磨 5-8 次（若无研磨仪，在涡旋仪上涡旋振荡 10-15 min）。

(4) 拭子、血液以及培养物病毒提取

- a. 直接取 200-300 μL 病毒样本加入 **16 RXN-布板的第 1/7 列（S-16/S-48 提取仪）或工位 1（S-96/N-96 提取仪）**，直接从步骤 5 开始。
4. 转移上一步样本至金属浴或水浴锅中，70°C 温浴 10 min。12,000 rpm 离心 4 min，将全部上清（大约 300 μL）转移至 **16 RXN-布板的第 1/7 列（S-16/S-48 提取仪）或工位 1（S-96/N-96 提取仪）**，吸取时应尽量避免吸到沉淀。
 5. 将 96 孔板放入仪器对应卡槽中，插入磁棒套，关闭舱门，开始运行程序。
 6. 程序结束后，仪器会自动停止。**16 RXN-布板的第 5/11 列孔（S-16/S-48 提取仪）或工位 6（S-96/N-96 提取仪）**中产物即为提取的核酸样品，将样品转移至干净离心管中，-20°C 保存。

提取程序

表 2. S-16/S-48 全自动核酸提取仪提取程序

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. S-96 全自动核酸提取仪提取程序

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
混合时间	00:00:30	00:07:00	00:04:00	00:01:00	00:01:00	00:03:00	00:00:30
混合速度	6	6	6	6	6	6	6
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
裂解温度: 25°C			洗脱温度: 65°C				4°C保存

表 4. N-96 全自动核酸提取仪提取程序

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	00:02:00	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	--