

磁珠法病毒核酸纯化试剂盒说明书（仪器配套使用）

产品组成

磁珠法病毒核酸纯化试剂盒	100 次制备
Cat. No.	4012100
Carrier RNA	550 μ l
Buffer LC	90 ml
Buffer WM	100 ml
Buffer WA	110 ml
Buffer WB	220 ml
Buffer TE	12 ml
说明书	1 份

产品储存

Carrier RNA 请置于 -20 $^{\circ}$ C 贮存。其他试剂可室温（15~25 $^{\circ}$ C）贮存。

技术支持

杭州新景生物试剂开发有限公司研发部：e-mail: technical@simgen.cn, 电话：400-0099-857。

产品介绍

本产品专为磁珠法核酸自动提取仪设计，适合从 200 μ l 血浆、无细胞体液（包括血浆、血清、尿液、CSF 及细胞培养上清）、病毒原液和感染病毒的组织裂解液中提取各种病毒 RNA 或病毒 DNA。试剂盒提供的试剂可预先分装到 2.2 ml 的 96 深孔板，配合磁珠法核酸自动化提取仪，只需在装有 Buffer LC 的孔中加入样本，即可由仪器自动化完成病毒核酸的释放、吸附、洗涤及洗脱等一系列过程，最后获得的核酸溶解在 Buffer TE 中，并可立即用于 PCR 或 RT-PCR 反应。

用户需自备的试剂与物品

1. 96 深孔板（2.2 ml），如果用户需要预先分装好试剂的 96 深孔板及磁力套，请另购产品序号为 4012064 的预分装磁珠法病毒核酸纯化试剂盒
2. 移液器吸头（为避免样品间的污染，请选用含有滤芯的移液器吸头）
3. 一次性手套及防护用品和纸巾
4. 磁珠法核酸自动化提取仪

使用前准备

1. 将 Carrier RNA 全部加入 Buffer LC（Buffer LC 中含有磁珠，分装前需要充分混匀）中并混匀，在 96 深孔板第 1 列和第 7 列每孔加入 800 μ l 含 Carrier RNA 的 Buffer LC（如果 Buffer LC 不能一次性用完，每 1 ml Buffer LC 中请加入 6 μ l 的 Carrier RNA 后使用）；
2. 在 96 深孔板第 2 列和第 8 列每孔加入 900 μ l Buffer WM；
3. 在 96 深孔板第 3 列和第 9 列每孔加入 1000 μ l Buffer WA；
4. 在 96 深孔板第 4 列和第 10 列每孔加入 1000 μ l Buffer WB；
5. 在 96 深孔板第 5 列和第 11 列每孔加入 1000 μ l Buffer WB；
6. 在 96 深孔板第 6 列和第 12 列每孔加入 100 μ l Buffer TE；

操作步骤

样本使用前处理

A 血浆、血清、无细胞体液、病毒原液、尿标本、脑脊液、疱疹液、CSF 及细胞培养上清
直接吸取 200 μ l 标本进行病毒核酸的分离纯化；如果标本体积不足 200 μ l，则补加 PBS 溶液至 200 μ l。

* 尽量采用新鲜分离的或者冻融不超过一次的标本进行病毒核酸的分离纯化。

B 咽拭子洗液、生殖道拭子洗液、漱口液

吸取 300 μ l 咽拭子洗液、生殖道拭子洗液、漱口液加入到 1.5 ml 离心管中，12000 rpm 离心 5 分钟，吸取 200 μ l 上清液进行病毒核酸的分离纯化。

C 感染病毒的组织裂解液：

取 10 mg 感染病毒的组织进行液氮研磨，研磨后的组织加入 300 μ l PBS 溶液悬浮，吸取 200 μ l 组织悬浮液进行病毒核酸的分离纯化。

D 粪便

在 1.5 ml 离心管中加入 1 ml 生理盐水，用灭菌的牙签挑取约 200 mg 左右（如果粪便呈液体状，直接吸取 200 μ l 粪便），加入到 1.5 ml 离心管中，旋涡震荡直至粪便完全分散开来。12000 rpm 离心 1 分钟，取 200 μ l 顶部上清液进行病毒核酸的分离纯化。

1. 在已分装好试剂的 96 深孔板中的第 1 列和第 7 列各孔中加入 200 μ l 体液样本，将 96 深孔板放入核酸自动化提取仪中。
2. 按以下步骤设置核酸自动纯化仪中的程序：

步骤	孔位	液量 (μ l)	浸泡 (秒)	搅拌强度 (级)	搅拌时间 (秒)	下降吸磁 (秒)	液底吸磁 (秒)	吸磁次数 (次)	等待时间 (秒)	暂停 关/开	板1裂解 ($^{\circ}$ C)	板1洗脱 ($^{\circ}$ C)	板2裂解 ($^{\circ}$ C)	板2洗脱 ($^{\circ}$ C)
1~99	1~6	20~1200	0~255	1~6	0~9999	5~600	0~255	0~255	0~9999	0/1	0~125	0~125	0~125	0~125
1	1	1000	0	5	600	60	3	2	0	0	45	0	45	0
2	2	1000	0	6	180	60	3	1	0	0	0	0	0	0
3	3	1000	0	6	180	60	3	1	0	0	0	0	0	0
4	4	1000	0	6	120	30	3	1	0	0	0	0	0	0
5	5	1000	0	6	120	30	3	1	600	0	0	0	0	0
6	6	100	0	6	600	60	60	2	0	0	0	60	0	60
7	1	1000	0	1	20	5	0	0	0	0	0	0	0	0

3. 收集转移第 6 列和第 12 列中的 DNA 到洁净的离心管中；或直接用封口膜封住 96 深孔板，储存到 -20 $^{\circ}$ C 备用。