

磁珠法病毒 DNA/RNA 提取试剂盒使用说明书

原理及用途

本试剂盒利用磁珠的特殊分离作用，采用独特的缓冲液系统，从组织研磨液、血清、血浆、淋巴液、无细胞体液、细胞培养上清液、尿液或各种病毒保存液中分离纯化高质量病毒 DNA 或 RNA。特殊包埋的磁珠，在一定条件下对核酸具有很强的亲和力，而当条件改变时，磁珠释放吸附的核酸，能够达到快速分离纯化核酸的目的。提取的病毒 DNA/RNA 得率高、纯度高、质量稳定可靠。

使用本试剂盒纯化的核酸可适用于各种常规操作，包括反转录、PCR、RT-PCR、荧光定量 PCR、荧光定量 RT-PCR 等各种下游实验。

试剂盒组成

产品组成	50 次
缓冲液 RLCK(Buffer RLCK)	15mL
Proteinase K	1 mL
漂洗液 PW I (Buffer PW I)	18 mL
漂洗液 PW II (Buffer PW II)	12 mL
Carrier RNA	310 µg
磁珠悬浮液 G(MagAttract Suspension G)	1 mL
RNase-Free ddH ₂ O	1 mL
RNase-Free ddH ₂ O	8 mL

储存条件

1. 所有缓冲液在室温条件下（15-25℃）保存。
2. 在原始状态下，Carrier RNA 冻干粉可在室温条件下储存至有效期；已配好的工作液时必须按照“Carrier RNA 工作液的配制”要求进行配制、储存、使用。
3. 有效期：1 年

样品处理

1. 组织样品处理：每份组织分别从三个不同的位置称取样品约 1g，用手术剪剪碎混匀后取 0.05 g 于研磨器中研磨，加入 1.5 mL 生理盐水继续研磨，待匀浆后转至 1.5mL 灭菌离心管中，8000rpm 离心 2min，取上清液用于检测。
2. 排泄物样品处理：取约 0.05g 排泄物于 1.5 mL 灭菌离心管中，加入 1mL 生理盐水涡旋振荡，8000 rpm 离心 2 min，取上清液用于检测。
3. 其它液体样品：直接取上清液用于检测

注意事项（请务必在使用本试剂盒之前仔细阅读）

1. 样品应避免反复冻融，否则会导致提取的核酸片段较小且提取量降低。
2. 若缓冲液 RLCK 中有沉淀，可于 37℃ 水浴重新溶解，摇匀后使用。
3. 需要用户自行准备的试剂：生理盐水、异丙醇、无水乙醇。
4. 实验前应仔细阅读说明书，在提取核酸时提前配制缓冲液 RLCK、Carrier RNA 工作液、漂洗液 PWI 和漂洗液 PWII 工作液。

缓冲液的配制

1. 缓冲液 RLCK 使用前应加入 5 mL 异丙醇，并在瓶签上勾选已配制标识，以方便操作时

确认。

2. 漂洗液 PWI 使用前应加入 12 mL 无水乙醇，并在瓶签上勾选已配制标识，以方便操作时确认。
3. 漂洗液 PWII 使用前应加入 48 mL 无水乙醇，并在瓶签上勾选已配制标识，以方便操作时确认。

Carrier RNA 工作液的配制

- 向装有 310 μg Carrier RNA 冻干粉的管子中加入 310 μL RNase-Free ddH₂O，将 Carrier RNA 彻底溶解，得到终浓度为 1 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 的溶液，并按实验情况分装到 RNase-Free 的离心管中，置于 -20℃ 储存。使用时按照提取的次数取出相应的溶液，该溶液应避免反复冻融，冻融次数不能超过 3 次。
- 注意 Carrier RNA 冻干粉不能直接溶解于缓冲液 RLCK 中，必须先溶解在 RNase-Free ddH₂O 中，再溶解至缓冲液 RLCK 中。
- **Carrier RNA 工作液：根据样品数量计算所需缓冲液 RLCK 和 Carrier RNA 溶液的体积（见表 1 或按每 310 μL RLCK 加入 Carrier RNA 3 μL 的比例进行配制），将缓冲液 RLCK 与 Carrier RNA 溶液颠倒混匀，即得到 Carrier RNA 工作液；为避免溶液出现起泡现象，请勿剧烈震荡。**

表 1 步骤 3 中 Carrier RNA 工作液的配制

样品个数	RLCK(mL)	Carrier RNA 水溶液 (μL)	样品个数	RLCK(mL)	Carrier RNA 水溶液 (μL)
1	0.31	3	13	4.03	39
2	0.62	6	14	4.34	42
3	0.93	9	15	4.65	45
4	1.24	12	16	4.96	48
5	1.55	15	17	5.27	51
6	1.86	18	18	5.58	54
7	2.17	21	19	5.89	57
8	2.48	24	20	6.2	60
9	2.79	27	21	6.51	63
10	3.1	30	22	6.82	66
11	3.41	33	23	7.13	69
12	3.72	36	24	7.44	72

自动化提取流程

1. 取一块深孔板(DW Plate)，每孔加入 20 μL Proteinase K。
2. 每孔加入 15 μL 磁珠悬浮液 G（使用前用移液器吹吸或涡旋振荡混匀磁珠）。
注意：如果样品量大可将 Proteinase K 与磁珠悬浮液 G 混合在一起，混合均匀后，分装于 96 孔板中。
3. 每孔加入 300 μL Carrier RNA 工作液，加入工作液后请快速加入样品，因为工作液对蛋白酶有抑制作用。
4. 样品平衡至室温后，吸取 200 μL 样品至装有蛋白酶 K 和磁珠悬浮液 G 的 96 孔板中。
5. 按下表将样品和试剂转移 DW Plate 中，并用笔标下板的名称。

板的名称	96 孔板类型	试剂名称与用量
Elution	浅孔板	RNase-free ddH ₂ O: 100μL
Wash 2_2	深孔板	PWII(已加入乙醇): 500μL
Wash 2_1	深孔板	PWII(已加入乙醇): 500μL
Wash 1	深孔板	PWI(已加入乙醇): 500μL
Sample	深孔板	Sample: 200μL Carrier RNA 工作液: 300μL Proteinase K: 20μL 磁珠悬浮液 G: 15μL
Tip plate	浅孔板	Comb(磁力套)

6. 启动 KingFisherBindIt 3.2 程序或导入 Pure Viral DNA/RNA Kit.bdz 程序。
注意：提取组织或其它难裂解样本病毒 DNA 或 RNA 时，导入 Pure Plus Viral DNA_RNA Kit.bdz 程序。
7. 约 33-43min 后程序执行完毕。
8. 取出 DNA 或 RNA 样品，用封口膜封好并保存于 -80 ℃。