

MagPure Pathgen DNA Rich Kit

磁珠法病原 DNA 富集试剂盒

本产品适合于从血液、血清、血浆、拭子浸泡液、积液、匀浆液等样品提取病原总 DNA，产品基于高结合力的纳米磁性粒子的纯化方式。样品在裂解液、蛋白酶 K 和珠磨的作用下裂解消化，DNA 释放到裂解液中。加入结合液和磁性粒子吸附 DNA，而蛋白质则不被吸附而去除。吸附了 DNA 的粒子经洗涤液洗涤去除蛋白质和其它杂质，再经含乙醇洗涤去除盐分，最后 RNA 被低盐缓冲液洗脱。洗脱的 DNA 可直接用于 PCR、病毒检测、二代测序等实验。

产品组份

- 瓶装试剂

产品编号	R6674-00	R6674-01	R6674-02	R6674-03
纯化次数	24 次	48 次	96 次	480 次
2ml Beads Tubes	24 次	48 次	96 次	480 次
Reagent DX	1.0 ml	1.5 ml	3ml	15 ml
Buffer SDS	1.5 ml	5 ml	10 ml	30 ml
Buffer CLB2	10 ml	20 ml	40 ml	200 ml
Proteinase K	12 mg	24 mg	50 mg	220 mg
Nuclease	-	-	25 KU	5 x 25 KU
Nuclease Buffer	1.5 ml	1.6 ml	5 ml	15 ml
Protease Dissolve Buffer	1.8 ml	1.8 ml	6 ml	30 ml
MagPure Particle G	1.5 ml	3 ml	6 ml	2 x 16 ml
Buffer MLF	30 ml	60 ml	120 ml	550 ml
Buffer MW1 *	13 ml	22 ml	44 ml	176 ml
Buffer MW2 *	10 ml	20 ml	50 ml	2 x 100 ml
Buffer AVE	10 ml	10 ml	20 ml	60 ml

保存条件

本产品室温运输，长期保存时，把 Proteinase K、Nuclease 保存于-20℃，MagPure Particles G 保存于 2-8℃，其余产品保存于室温，有效期 18 个月。

产品组份

- 预分装试剂, 版本, 尖底板

货号	试剂组份与装量	R6674-TL-06	R6674-S-48
2ml Beads Tubes		96 次	48 次
Reagent DX		3 ml	1.5 ml
Buffer SDS		10 ml	5 ml
Buffer CLB2		40 ml	20 ml
Proteinase K		50 mg	24 mg
Nuclease		25 KU	-
Nuclease Buffer		5 ml	1.5 ml
DA-Tip		12 个	24 个
尖底板/ 试剂条	第 1/7 排孔: 500µl Buffer MLF	6 块	48 条
	第 2/8 排孔: 500µl Buffer MLF		
	第 3/9 排孔: 500µl Buffer MW1		
	第 4/10 排孔: 500µl Buffer MW2 25µl MagPure Particles G2		
	第 5/11 排孔: 500µl Buffer MW2		
	第 6/12 排孔: 70µl Buffer AVE		

保存条件

本产品室温运输, 长期保存时, 把 Proteinase K、Nuclease 保存于-20℃, MagPure Particles G 保存于 2-8℃, 其余产品保存于室温, 有效期 18 个月。

准备工作

- 溶解蛋白酶 K: 按标签所示加入蛋白酶溶解液, 颠倒混匀, 充分溶解后保存于-20℃。
- 溶解 Nuclease: 加入 1.2ml 蛋白酶溶解液至 Nuclease 干粉中, 混匀溶解后保存于-20℃。
- 使用前, 洗涤液 MW1/MW2, 按标签所示, 加入适量的无水乙醇进行稀释。
- Reagent DX 与 Buffer SDS 可以按比例进行预先混匀, 使用前先颠倒混匀再分装。

第一部分：样品前处理流程

A: 病原总核酸提取（快速）

1. 转移 0.5~1.5 ml 的全血、血水、积液、血清、血浆、匀浆液、拭子浸泡液等体液样品至 2ml 离心管中，于 2,000 × g 离心 10 分钟去除脱落细胞。
2. 转移 0.5ml 上清液至 1.5ml 离心管中。加入 25µl Nuclease Buffer 和 10µl Nuclease，颠倒混匀，室温振荡温育 15 分钟消化胞外核酸。
3. 在 2ml Beads Tubes，先加入 2ul Reagent DX 和 50µl Buffer SDS。然后加入 0.5ml 经 Nuclease 处理的样品（步骤 2），最后加入 20µl Proteinase K。旋紧盖子，转移至在涡旋仪上涡旋 10 分钟或转移至珠磨仪进行珠磨。
4. 65 度温育 20 分钟，13,000 × g 离心 3 分钟，按第 2/3 部分进行操作。

B: 病原总核酸富集提取

1. 取 1.0~1.5ml 血浆、积液、全血、匀浆液、细胞悬液、拭子浸泡液等体液至 2ml 离心管中，5,000 × g 离心 5 分钟去除脱落细胞。转移 250ul 上清液（含病原和支原体）至新的离心管中，用于病毒和支原体提取（第 4 步）。
2. **保留余下残液和沉淀，涡旋重悬沉淀，加入 0.25 倍体积的 Buffer CLB2（200~300µl），颠倒混匀 10-15 次。**室温放置 10 分钟，其间颠倒混匀数次。13,000 × g 离心 10 分钟收集微生物细胞，小心吸弃上清液。
3. 加入 250µl Buffer AVE 至沉淀中，涡旋重悬沉淀，加入 25µl Nuclease Buffer 和 10µl Nuclease，混匀，室温振荡温育 20 分钟。
4. 在 2ml Beads Tubes 中，先加入 50µl Buffer SDS 和 2µl Reagent DX。转移第 4 步的全部消化液，以及 250µl 病毒上清液（第一步）至 2ml Beads Tubes 中，最后再加入 20µl Proteinase K。旋紧盖子，转移至涡旋仪上涡旋 10 分钟或珠磨仪上珠磨裂解微生物。
5. 65 度温育 20 分钟，13,000 × g 离心 3 分钟，按第 2/3 部分进行操作。

第二部分：手工抽提流程

1. 转移 400~500µl 消化液至新的 2ml 离心管中，入 1ml Buffer MLF 和 50ul MagPure Particles G，室温颠倒混匀 8 分钟，转移至磁力架上，静置 3 分钟吸附磁珠，吸弃溶液。
2. **加入 600µl Buffer MW1，涡旋混匀 10 秒。**转移至磁力架上，静置 2 分钟吸附磁珠。小心吸弃所有溶液。
3. **加入 600µl Buffer MW2，涡旋混匀 10 秒。**转移至磁力架上，静置 2 分钟吸附磁珠。小心吸弃所有溶液。

4. 重复第 3 步一次。
5. 短暂离心，收集管壁上的液滴，吸弃所有溶液。空气干燥 10 分钟。
6. 加 50~100µl Buffer AVE 或灭菌水等缓冲液，涡旋打散磁珠。室温放置 5 分钟，其间轻轻振荡 1~2 次加速溶解。
7. 转移至磁力架上，静置 3 分钟。转移 DNA/RNA 溶液至新的 1.5ml 离心管中。

第三部分：32/48 通道核酸提取仪操作

1. 瓶装试剂：按预分装试剂表格所示，按各种试剂分装至 96 孔板的对应孔中。
预分装试剂：颠倒 96 孔板让磁珠充分悬浮，正放 1 分钟后，去除封口袋和封口膜。
2. 在第 1/7 排孔中和 2/8 排孔中，分别加入 200~250µl 上清液(第一部分)。
3. 把磁力外套插到仪器中，把 96 孔板放到仪器中(A1 孔按左内角放置)。
4. 编写程序，并启动对应程序。

序号	步骤名称	孔位	容积	混合时间		等待		磁吸时间			吸磁	加热	
				时间	速度	时间	位置	升降	液面	底部		板位	温度
1	吸磁	4	500	20s	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
2	结合1	1	750	300s	8	0	0	90s	30	30	自动	/	/
3	结合2	2	750	300s	8	0	0	90s	30	30	自动	/	/
4	清洗1	3	500	120s	8	0	0	90s	20	20	自动	/	/
5	清洗2	4	500	60s	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
6	清洗3	5	500	60s	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
7	干燥	5	500	0	8	6	0	0	0	0	自动	/	/
8	洗脱	6	100	300s	9	0	0	60s	0	50	自动	/	/
9	弃磁	4	500	30s	9	0	0	0	0	0	自动	/	/

5. 约 40 分钟提取结束，取出 96 孔板和磁力外套。
6. 把 RNA 转移至 1.5ml 离心管中，把产物保存于-20~8℃。