

产品概述

本试剂盒适用于从生物液体样本(肺泡灌洗液、痰液、脑脊液、拭子液、血清、血浆等)中分离纯化DNA和RNA。试剂盒采用化学法与机械法相结合的裂解方法,能够高效裂解细胞壁较厚的细菌或真菌类样本。本试剂盒中使用的高亲和力硅基磁珠,可在高盐缓冲液作用下,通过氢键和静电吸附核酸,经过漂洗去除多余的蛋白质和盐;在低盐洗脱液或Nuclease-free ddH₂O作用下,磁珠释放核酸,从而达到快速分离纯化核酸的目的。本试剂盒匹配的全自动核酸提取仪(Thermo #KingFisher Flex)利用磁珠吸附原理,通过特制的磁棒吸附、转移和释放磁珠,实现磁珠/核酸的转移,自动完成核酸的提取和纯化。本试剂盒分离的DNA和RNA适用于多种下游应用,包括PCR、Real-Time PCR、宏基因组文库构建、DNA/RNA共建库等。

产品组分

组 分	RM603-01 (96 T)
Lysis Plate	1
Beads Plate	1
W1 Plate	1
W2 Plate	2
EB Plate	1
Lysis Buffer S	4.8 ml
Lysis Tube 2	2 × 48
Reagent DX	20 µl
PBS	48 ml
Proteinase K	5 × 1 ml

保存条件

15 ~ 25℃保存, 室温运输。

适用范围

生物液体样本: 新鲜或冻存肺泡灌洗液、痰液、脑脊液、关节滑液、胸腹水、眼球液等($\leq 1 \times 10^7$ 个细胞);

拭子样本: 新鲜咽、鼻、口腔等拭子采集液($\leq 1 \times 10^7$ 个细胞);

血清/血浆样本: 新鲜或冻存的血清、血浆($\leq 400 \mu\text{l}$)。

适用仪器

适用于全自动核酸提取仪(Thermo #KingFisher Flex)及同类型仪器。

自备材料

高速离心机、涡旋混匀仪或振荡破碎仪。

注意事项

本产品仅供科学研究使用,不得用于临床医学诊断及非合理用途。

1. 病原样本处理需在生物安全柜中进行。
2. 使用全自动核酸提取仪前,需对其进行紫外照射30 min以上(对于病原微生物核酸提取可增加紫外照射时间至12 h)。实验完毕后,用75%乙醇擦拭提取仪内部并进行紫外照射30 min。
3. 首次使用本试剂盒前, 请向Lysis Buffer S中加入12 µl Reagent DX。

实验流程

1. 预封装试剂准备

从试剂盒中取出预封装试剂，颠倒混匀数次使磁珠重悬，轻甩孔板，收集试剂及磁珠至孔板底部，使用前请确认孔位方向并小心撕去铝箔封口膜。

▲ 撕封口膜时避免振动，防止液体溅出。

2. 核酸提取

2.1. 病原微生物核酸提取

样本预处理：

a. 痰液样本：取适量痰液，向其中加入5倍体积的N-乙酰半胱氨酸溶液(10 g/L)(自备)，振荡混匀液化30 - 60 min，7,500 rpm (5,400 × g)离心10 min，弃上清。使用500 μl PBS重悬沉淀并转移至Lysis Tube 2中。

b. 拭子类样本或其他生物液体样本：起始投入500 μl样本至Lysis Tube 2。

▲ 若样本体积<500 μl，使用PBS补足至500 μl。

▲ 若样本体积>500 μl，则转移样本至1.5 ml Nuclease-free离心管，12,000 rpm (13,800 × g)离心5 min，弃上清，使用500 μl PBS重悬沉淀并转移至Lysis Tube 2。

样本提取：

向上述已加入样本的Lysis Tube 2中依次加入40 μl Proteinase K和50 μl Lysis Buffer S，将Lysis Tube 2置于涡旋仪上并以最大转速涡旋10 min。涡旋结束后，12,000 rpm (13,800 × g)离心3 min，转移全部上清(约430 μl)至Lysis Plate中，随后进行第3步实验。

▲ 若12,000 rpm (13,800 × g)离心3 min后仍有泡沫，可增加离心时间以消除泡沫。

2.2. 血浆/血清样本游离核酸提取

向Lysis Plate中均依次加入400 μl血清/血浆样本和40 μl Proteinase K，随后进行第3步实验。

▲ 若样本体积<400 μl，使用PBS补足至400 μl。

3. 自动化仪器提取步骤

a. 请从官网(<https://www.vazyme.com/Home.html>)搜索RM603，并从产品页面下载RM603程序(VAMNE Magnetic Pathogen DNA/RNA script for KingFisher Flex (.bdz))或RM603 Fast程序(VAMNE Magnetic Pathogen DNA/RNA Fast script for KingFisher Flex (.bdz))并加载到仪器上。

▲ RM603程序适用于所有样本类型核酸提取；RM603 Fast程序仅适用于血清、血浆游离核酸快速提取。

b. 将磁棒套插入Beads Plate中，按照程序提示依次将对应的试剂板置于Thermo #KingFisher Flex核酸提取仪中(缺口朝向右上角)，运行程序。

c. 程序运行结束后，将EB Plate中的洗脱液转移至Nuclease-free离心管中，洗脱产物可直接用于下游实验或于-20℃保存。