VAMNE Magnetic Pathogen DNA Kit (Prepackaged)

DM202

Version 21.1

产品概述

本试剂盒适用于从生物液体样本(肺泡灌洗液、血液、痰液、拭子液、脑脊液等)中分离纯化DNA。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 ddH_2O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(Vazyme #VNP-32P)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适用于多种下游应用，包括PCR、Real-Time PCR、宏基因组文库构建、芯片分析等。

产品组分

组 分	DM202-01 (64 T)
DNA Reagents (Prepackaged for DM202)	4 × 16 T
Lysis Buffer 1	12.8 ml
Lysis Tube	64 个
Proteinase K	3 × 1 ml
PBS	12.8 ml

保存条件

Proteinase K，2 ~ 8℃保存，根据不同目的地调整运输方式；
其他组分，15 ~ 25℃保存，室温运输。

适用仪器

适用于全自动核酸提取仪(Vazyme #VNP-32P)及同类型仪器(加热槽位为1、6、7、12)。

适用范围

血液样本：新鲜或冻存抗凝全血(≤200 μl)；

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(≤1 × 10^7个细胞)；

拭子样本：新鲜咽、鼻、口腔等拭子采集液(≤1 × 10^7个细胞)。

自备材料

高速离心机、涡旋混匀仪或振荡破碎仪。

注意事项

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。

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.基因组提取

2.1 病原微生物基因组提取

样本预处理：

a. 血液样本：取200 μl血液样本至Lysis Tube中。

▲ 若样本体积<200 μl，使用PBS补足至200 μl。

b. 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200 μl PBS重悬沉淀并转移至Lysis Tube中。

c. 拭子类样本或其他生物液体样本：起始投入200 μl样本至Lysis Tube中。

▲ 若样本体积<200 μl，使用PBS补足至200 μl。

▲ 若样本体积>200 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200 μl PBS重悬沉淀并转移至Lysis Tube。

样本提取:

向上述已加入样本的Lysis Tube中依次加入200 μl Lysis Buffer 1和40 μl Proteinase K，将Lysis Tube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，转移全部上清至96深孔板试剂的第1列及第7列孔，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 血液样本全基因组提取

向96深孔板试剂的第1列和第7列孔中均依次加入200 μl血液样本和40 μl Proteinase K，随后进行第3步实验。

3.自动化仪器运行步骤

a. 将96深孔板按正确方向(缺口朝向左上角)置于核酸提取仪中，安装磁棒套，并确保其插入至底部。

b. 按以下程序编辑(或选择对应预存程序)，进行自动化提取。

步骤	槽位	名称	混合时间 (min)	磁吸时间 (sec)	等待时间 (min)	体积 (μl)	混合速度	温度 (℃)	混合位置	混合幅度	吸磁位置	吸磁速度
1	2	移磁珠	1	60	0	700	8	-	10%	80%	0%	5
2	1	裂解	10	60	0	790/990	10	70	10%	100%	0%	5
3	3	漂洗1	3	60	0	700	10	-	10%	100%	0%	10
4	4	漂洗2	1	60	0	700	10	-	10%	100%	0%	10
5	5	漂洗2	1	60	1	700	10	-	10%	100%	0%	10
6	6	洗脱	15	220	0	110	10	70	10%	100%	0%	10
7	2	弃磁珠	0.1	0	0	700	8	-	10%	80%	0%	5
其他设置(选项栏设置)：升温设置(升温和动作同时开始) 吸磁设置(3段吸磁)												

c. 自动化程序结束后，将第6列和第12列孔中的洗脱液转移至干净的Nuclease-free离心管中；洗脱产物可直接用于下游实验或于-20℃保存。

*所有商标均属于各自商标所有者的财产。某些商标并未在全部行政区注册。