

水中DNA/RNA磁珠试剂盒

中文版

基于磁珠的核酸提取试剂盒

水中DNA/RNA磁珠试剂盒

名称和预期用途

水中DNA/RNA磁珠试剂盒设计用于从污水浓缩物中分离DNA和RNA。

一般信息

水中DNA/RNA磁珠试剂盒可用于在微量离心管中处理单个样品，或可选可同时处理多个样品的自动磁分离设备（例如Kingfisher™或MagMax™系统）。首先用结合缓冲液（BB）和蛋白酶K（PK）处理样品以解离DNA/RNA并使核酸酶失活。核酸与磁珠在结合缓冲液（BB）中进行结合。磁分离后，用两个洗液（W1和W2）洗涤磁珠，以去除抑制剂，蛋白质和其他污染物。干燥步骤后，用少量洗脱缓冲液（EB）洗脱纯化RNA/DNA。

材料和样品存储（安全信息在第7页）

品名		数量（4 x 96）	储存条件	
PK	蛋白酶K	3 x 7 mL	收货时	首次使用后
			2 - 26° C	- 25至-15° C
BB	结合缓冲液	120 mL	15-26° C	
W1	洗液1	132 mL		
W2	洗液2	146 mL		
EB	洗脱缓冲液	60 mL		
MB	磁珠	8 mL		

所需但未提供的材料

- 无水乙醇，ACS级或同等水平
- 2-丙醇，ACS级或同等水平
- 无核酸酶的微量离心管
- 磁分离架
- 离心管加热板
- 涡旋混合器
- 个人防护设备（手套，安全眼镜，实验服）
- 无核酸酶、抗气溶胶的移液枪枪头（某些类型的样品可能需要大口径的枪头）
- 移液枪（5-1000 μ L）
- Seracare AccuPlex™ SARS-CoV-2 验证面板（产品编号：0505-0129）或合适的替代产品

可选自动处理：

- 自动磁分离设备（例如Kingfisher™）
- 用于裂解，结合和洗涤步骤的深孔板（请参阅“订购信息”部分）
- 用于洗脱样品的洗脱（U底）板或条（请参阅“订购信息”部分）
- 枪头架（用于自动处理器）（请参阅“订购信息”部分）

实验室规范和警告

- 请勿使用过期试剂。
- 使用试剂和核酸时，请戴无粉手套。
- 为避免交叉污染，所有移液均应使用无核酸酶，抗气溶胶的移液枪枪头，并在物理上分隔各个工作场所进行核酸提取，PCR设置和PCR。
- 溶液BB和W1含有离液盐。在处理时，穿戴适当的个人防护设备（手套，安全眼镜，实验服等）。
- 请参阅本文档末尾的其他安全信息。

一般注意事项

磁珠的处理

- 在分配磁珠前，摇动或涡旋瓶子，以确保磁珠混合均匀。

试剂准备

注意：结合缓冲液和洗液1包含可能在低温（2-15°C）下沉淀的组分。在开始工作之前，请检查这些成分。如果观察到盐沉淀，将溶液回温至37°C以溶解沉淀的盐。

溶解蛋白酶K（PK）

在使用前，将7.0 mL洗脱缓冲液添加到每个小瓶中。充分混合并标记标签，以指示已将稀释剂添加到样品瓶中。将重组的PK溶液根据需求等分并保存在-25至-15°C下。

结合缓冲液和洗液的制备

请参考下表准备结合缓冲液和洗液。添加好试剂后，请在外部标签上做好标记。过期时间与试剂标签上列出的相同。

名称	起始体积	酒精添加体积
结合缓冲液	120毫升	100 mL 2-丙醇
洗液1	132毫升	80 mL乙醇
洗液2	146毫升	300 mL乙醇

所有其他成分均已提供即用型，应在15-26°C下保存直至到期。

水中DNA/RNA磁珠快速参考信息

裂解/结合

1

1. 工作溶液的计算：

试剂	每个样品的体积
结合缓冲液 (BB)	500 μ L
蛋白酶K (PK)	50 μ L
磁珠 (MB)	20 μ L

2. 200 μ L样品
 3. 混合，在58 $^{\circ}$ C孵育10分钟
 4. 磁分离
-

洗磁珠

2

1. 500 μ L洗液1；磁分离
 2. 500 μ L洗液2；磁分离
 3. 500 μ L洗液2；磁分离
 4. 在18–26 $^{\circ}$ C下将磁珠干燥5–10分钟
-

洗脱核酸

3

1. 100 μ L洗脱缓冲液
 2. 混合，在18–26 $^{\circ}$ C下孵育10分钟
 3. 磁分离
 4. 将洗脱液转移至干净的多孔板或离心管中
-

请参阅下一页的详细实验步骤。

水中DNA/RNA磁珠方案（手动微量离心管步骤）

Lysis/Binding工作溶液的制备和样品裂解

计算所需的工作溶液量。考虑到移液损失额外准备10%。

裂解工作液计算：

试剂	每个样品的体积
结合缓冲液（BB）	500 μ L
蛋白酶K（PK）	50 μ L
磁珠（MB）	20 μ L

1. 按上面列出的顺序混合试剂制备工作溶液。移液前，混合磁珠以确保溶液均匀。工作液使用前可在18至26°C的温度下保存1小时。较长的存储时间可能会导致裂解效率降低。
 2. 在使用前，将工作溶液彻底颠倒混合，以确保磁珠均匀分布在溶液中。
 3. 向微量离心管中添加570 \pm 10 μ L工作溶液。
 4. 在添加样品之前，通过上下移液几次来混合污水浓缩液。
 5. 向样品管中添加200 \pm 5 μ L污水浓缩液并充分混合。
 6. 在干燥的加热块中于58 \pm 2°C孵育10分钟。定时涡旋离心管以保持磁珠悬浮在溶液中，并分散可能形成的任何聚集物。
 7. 快速离心微型离心管将所有液体收集到管的底部。
-

洗磁珠

1. 将样品管放在磁分离架上，静置1-2分钟，直到所有磁珠被磁极吸附。用移液器去除上清液，注意不要扰动磁珠。
 2. 从磁分离架上取下样品管，加入500 \pm 20 μ L洗液1，并通过上下吹打液体将其充分混合，确保磁珠悬浮。
 3. 重复步骤1以去除洗液1。
 4. 从磁分离架上取下样品管，加入500 \pm 20 μ L洗液2，并通过上下吹打液体将其充分混合，确保磁珠悬浮。
 5. 重复步骤1以去除洗液2。
 6. 重复步骤4，再次将磁珠重悬在洗液2中。
 7. 重复步骤1去除洗液2。
 8. 在18-26°C下，将离心管打开，干燥磁珠5-10分钟。
-

洗脱核酸

1. 将100 μ L洗脱缓冲液添加到样品管中，并通过上下吹打液体将其完全混合。
 2. 在18-26°C下孵育10分钟。定时混合以保持磁珠悬浮在溶液中。
 3. 将样品管放在磁分离架上以分离磁珠。静置1-2分钟，直到所有磁珠都被磁极吸附。
 4. 将含有纯化核酸的上清液转移至新微型离心管中。
 5. 在2-8°C下保存纯化的核酸，并在6小时内使用，纯化的核酸可在-25至-15°C下最长保存1个月，或可长期在-80°C下保存。
-

程序说明

- 在结合和洗脱步骤中保持磁珠悬浮所需的样品混合量会因样品而异。通过目测检查确保磁珠悬浮。
- 如有必要，在混合后，快速旋转离心管以在底部收集液体。

水中DNA/RNA磁珠方案（自动化程序）

仪器运行

在进行提取操作之前，请与DEXX技术服务联系以得到帮助，并在仪器上安装正确的方法文件进行提取操作。

样品裂解板的制备

1. 计算所需的工作溶液量，考虑移液损失需额外准备10%。裂解工作液计算：

试剂	每个样品的体积
结合缓冲液（BB）	500 μ L
蛋白酶K（PK）	50 μ L
磁珠（MB）	20 μ L

2. 按上面列出的顺序混合试剂制备工作溶液。移液前，混合磁珠以确保均匀。
3. 在使用前，将工作溶液彻底颠倒混合，以确保磁珠均匀。工作溶液使用前在18-26°C下保存最多1个小时。较长的存储时间可能会导致裂解效率降低。
4. 将570 μ L（ \pm 10 μ L）工作溶液添加到96孔深孔板的孔中。
5. 向孔中添加200 μ L（ \pm 5 μ L）污水样品。

洗涤板和洗脱板的制备

Wash/Elution板（Kingfisher FLEX）：

- 洗涤板1 –将500 μ L（ \pm 20 μ L）洗液1加至深孔板的孔中。
- 洗涤板2 –将500 μ L（ \pm 20 μ L）洗液2加至深孔板的孔中。
- 洗涤板3 –将500 μ L（ \pm 20 μ L）洗液2加至深孔板的孔中。
- 洗脱板 –将100 μ L洗脱缓冲液（EB）加入标准（200 μ L）96孔板的孔中。

Kingfisher DUO和DUO Prime的Wash/Elution孔：

将单个深孔板的整行用于放置样品和洗涤溶液，将单独的洗脱带用于放置洗脱缓冲液：

- A行：向A行的孔中添加样品和工作溶液
- B行：将枪头架放入B行
- 行C-E：未使用行C，D和E –保持为空行
- F行：向F行的孔中添加500 μ L（ \pm 20 μ L）洗涤1
- G行：向G行的孔中添加500 μ L（ \pm 20 μ L）的洗涤液2
- H行：向H行的孔中添加500 μ L（ \pm 20 μ L）的洗涤液2
- 洗脱带：将100 μ L洗脱缓冲液（EB）加入洗脱带的孔中

完成运行

运行适用于仪器的方法文件，并按照仪器显示屏上的指示插入platesstrip。

1. 最终洗脱步骤结束后，仪器停止运行。
2. 请按照仪器显示屏上的说明进行操作，然后从仪器上卸下板或条。用铝箔盖住多孔板或洗脱带孔。
3. 将纯化的核酸保存在2-8°C下可在6小时内使用，在-25至-15°C下可保存长达1个月，或在-80°C下可以长期保存。

质量控制程序：

以下参照应该与提取的每组污水样品一同测试。

- 提取阳性对照（Accuplex SARS-CoV-2验证面板）：
应当提取含有SARS-CoV-2 RNA的提取对照，并与每组样品一起测试。提取阳性对照用于证明提取过程中成功回收了RNA，并且在PCR实验中显示应检测SARS-CoV-2靶标阳性。IDEXX建议使用Accuplex验证面板（请参阅订购信息），该面板包含经过重组病毒，可携带SARS-CoV-2 RNA序列；这提供了完整的提取过程参照物，需要裂解并从完整的病毒颗粒中回收单链RNA，以在PCR实验中得到阳性结果。要进行提取阳性对照，请在验证过程中使用200 μ L验证面板中提供的“Member 1”稀释液来提取样品。

或者，已被确认对SARS-CoV-2呈阳性的样品可用于提取阳性对照。此类样品应有足够的体积，以供多次运行使用，使用前应进行测试，并采用适当的稀释度，以确保获得预期的阳性结果。

- 提取阴性对照（PCR级水）：
应当提取不含核酸的“无模板”（阴性）对照，并对每组污水样品进行测试，以验证提取试剂和材料中是否存在核酸污染。要进行提取阴性对照，请在提取过程中使用200 μ L PCR级水作为样品。提取阴性对照对SARS-CoV-2目标应给出阴性结果。

订购信息（自动程序）

产品	供应商	参考
Poly (A)	Millipore Sigma	10108626001
Wide Bore tips	赛默飞世尔科技	2079克（1000 uL） 2069克（200 uL）
96 deep-well plate (FLEX and DUO)	赛默飞世尔科技	95040450
96-well microplate (FLEX)	赛默飞世尔科技	97002540
Tip comb (FLEX)	赛默飞世尔科技	97002534
Tip comb (DUO)	赛默飞世尔科技	97002070
洗脱带 (DUO)	赛默飞世尔科技	97003520
密封箱 (50件)	IDEXX	98-56152-00 (50件)

安全信息

水DNA/RNA磁珠试剂盒的以下组件包含危险内容物。戴上手套和护目镜，并遵守本节中给出的安全说明。

GHS分类

零件	有害物质	GHS符号	危险短语	注意事项
结合缓冲液 (BB)	盐酸胍35-50%		警告 302, 315, 319	280, 301+312, 302+352, 305+351+338, 330, 332+313, 337+313
洗1 (W1)	盐酸胍35-50%		警告 302, 315, 319	280, 301+312, 302+352, 305+351+338, 330, 332+313, 337+313
PK	蛋白酶K (5-10%)		危险 334	261, 285, 304+341, 342+311, 501

危险短语

- H 302 吞食有害。高315 引起皮肤刺激。
- H 319 引起严重的眼睛刺激。
- H 334 吸入可能引起过敏或哮喘病症状或呼吸困难。

注意事项

- P 233 保持容器密闭。 P 261 避免吸入雾状蒸气。
- P 280 戴防护手套和护目镜。
- P 285 万一通风不良，戴呼吸防护装置。
- P 301 + 312 如果误吞：请呼叫解毒中心医生.....如果您感到不适。 P 302 + 352 如皮肤接触：用大量水冲洗...
- P 304 + 341 如误吸入：如果呼吸困难，将人员转移到新鲜空气处并保持呼吸舒适。 P 305 + 351 如果进入眼睛：用水连续冲洗几分钟。
- +338 取出隐形眼镜（如果有）并且易于操作-继续冲洗。
- P 330 漱口。
- P 332 + 313 如果发生皮肤刺激：就医。 P 337 + 313 如果眼睛刺激持续存在，就医。
- P 342 + 311 如果出现呼吸道症状：呼叫中毒医生。
- P 501 按照当地所有国家/地区的国家法规处置内装物。有关更多信息，请参见材料安全数据表。

如需技术支持，请致电：400 678 6682

* IDEXX是IDEXX实验室或其在美国和其他国家（地区）的分支机构的商标或注册商标。所有其他产品和公司名称以及徽标是其各自所有者的商标。

符号说明

 批次代码（批次）

 目录编号

 按日期使用

 制造商

 温度限制