



YALEPIC® 磁珠法病原微生物 DNA/RNA 提取试剂盒

YALEPIC® MagEVO Pathogenic Microbes DNA/RNA Extraction Kit

产品货号: YG28001

产品保存及运输条件:

常温运输; 10 ~ 30°C 室温保存一年。

产品概述

YALEPIC® MagEVO Pathogenic Microbes DNA/RNA Extraction Kit 适用于从血液、拭子、痰液、肺泡灌洗液及微生物培养物等生物样本中分离纯化病毒、细菌和真菌等病原微生物的 DNA 及 RNA。本试剂盒操作便捷, 无需使用酚氯仿等有毒试剂, 能最大限度地去除蛋白、无机盐等杂质。纯化的 DNA/RNA 产物适用于多种应用, 包括 PCR、Real-Time PCR、宏基因组文库构建、全基因组测序分析等。

产品组分

序号	产品组分	YG28001 (96 T)
①	LBB Buffer	45 ml
②	Wash Buffer A	110 ml
③	Wash Buffer B	110 ml
④	Nuclease-free ddH ₂ O	8 ml
⑤	Proteinase K	3 × 1.3 ml
⑥	Magbeads PM	2 × 1 ml
⑦	Lysis Tubes P	96 T

适用范围

1. 血液样本: 新鲜或冻存抗凝全血 ($\leq 400 \mu\text{l}$) 。
2. 体液样本: 0.2 ~ 3ml 新鲜或冻存的肺泡灌洗液、脑脊液、胸腹水、痰液等 ($\leq 5 \times 10^6$ 个细胞)。
3. 拭子液样本: 0.2 ~ 2ml 鼻、咽、口腔等拭子液 ($\leq 5 \times 10^6$ 个细胞) 。
4. 细菌 ($\leq 1 \times 10^9$ 个细胞)、真菌 ($\leq 1 \times 10^9$ 个细胞) 。

自备试剂及仪器

异丙醇; 2/15ml 磁力架或核酸提取仪; 涡旋混匀仪或振荡破碎仪; Nuclease-free 移液器吸头; 高速离心机; 恒温水浴锅; (如需处理粘稠样本, 需自行准备 PBS、NaOH) 。

实验准备及注意事项

1. 使用本试剂盒前做好防护措施, 穿戴实验服、手套、口罩等。
2. 病原样本处理需在生物安全柜中进行, 使用 Nuclease-free 的移液器吸头和消耗品, 试剂使用完后立即盖好瓶盖, 交叉污染的风险。
3. 使用前检查 **LBB Buffer** 是否出现沉淀, 如有沉淀出现, 请置于 55 ~ 58°C 水浴重新溶解。
4. **Wash Buffer A** 和 **Wash Buffer B** 包含无水乙醇, 使用后请立即拧紧瓶盖, 防止乙醇挥发。
5. 待处理样品应保证新鲜, 如果需要储存或运输, 最好在 2 ~ 8°C 条件下进行, 不可冻融。
6. 如需单独除去 RNA, 可在步骤 3 后加入 5 μ l 浓度为 100 mg/ml 的 RNase A 溶液 (YALI#YX27001), 振荡混匀, 20 ~ 30°C 放置 10 min。如需单独除去 DNA, 在步骤 5 后加 80 μ l DNase I (1U/ μ l) 预混液 (YALI#YX27002), 20 ~ 30°C 孵育 15 min。
7. 请勿冻存 **Magbeads PM**。

实验流程

● 手动操作 (配磁力架)

1. 样本处理:
 - 1) 血液、脑脊液等非粘稠样本, 无需液化处理, 直接取样进行实验。
 - 2) 粘稠体液、痰液等, 取 500 μ l 或适量液化后的样本至 1.5ml 离心管 (自备) 中, 12,000 rpm 离心 5 min, 弃上清, 使用 400 μ l PBS (自备) 重悬沉淀。 (注: 如果痰液粘稠, 向痰样本中加入 4 倍体积 4% 氢氧化钠溶液, 静置 30 min, 待其充分液化)
 - 3) 肺泡灌洗液、胸腹水等, 可先进行离心, 去除上清液后, 取下层 500 μ l 粘稠样本 (细胞、菌体、少量痰液), 参考痰液样本进行液化处理。
 - 4) 拭子样本, 将拭子棉签部分在 0.5 ml PBS (自备) 中旋转 20 s, 取出棉签时尽量将菌液挤出, 减少损失。
2. 在 **Lysis Tubes P** 中加入 400 μ l 样本、400 μ l **LBB Buffer** 涡旋振荡 10 min, 或用恒温混匀仪 (2,500 rpm) 处理 10 min。
3. 室温 12,000 rpm 离心 1 min, 取上清液加入新离心管中, 加 40 μ l **Proteinase K** 涡旋混匀 5 ~ 8 s 后, 置于 65°C 孵育 10 min。
4. 瞬时离心 2 ~ 3 s, 在离心管中加 20 μ l **Magbeads PM** 和 300 μ l 异丙醇, 涡旋混匀 5 ~ 8 s, 室温静置 5 min。 (注: **Magbeads PM** 使用前, 涡旋充分重悬)
5. 瞬时离心 2 ~ 3 s, 确保管壁无液体残留, 将离心管置于磁力架上静置 3 min 或至磁珠完全吸附, 用移液器小心吸弃所有上清。
6. 在离心管中加入 500 μ l **Wash Buffer A**, 用移液器吹打 5 ~ 8 次, 将离心管置于磁力架上静置 3 min 或至磁珠完全吸附, 用移液器小心吸弃所有上清。重复此步骤 1 次。
7. 在离心管中加入 500 μ l **Wash Buffer B**, 用移液器吹打 5 ~ 8 次, 将离心管放置于磁力架上静置 3 min 或至磁珠完全吸附, 用移液器小心吸弃所有上清。重复此步骤 1 次。
8. 离心管放置于磁力架上, 开盖晾干 5 min。
9. 在离心管中加入 70 μ l **Nuclease-free ddH₂O**, 用移液器吹打混匀, 置于 56°C 孵育 5 min。



10. 将离心管瞬时离心后，放置于磁力架上静置 3 min 或至磁珠完全吸附，用移液器将所有上清转移至新的离心管（自备）中。分离纯化的 DNA/RNA 溶液可置于 -20℃ 长期保存。

● 全自动核酸纯化仪

(根据选用仪器型号进行试剂分装及程序设定，以下流程以 32 通道全自动核酸提取仪为例进行步骤说明)

1. 样本前处理请参考手动操作步骤。
2. 在 **Lysis Tubes P** 中加入 400 µl 样本、400 µl **LBB Buffer** 涡旋混匀 10 min，或用恒温混匀仪 (2,500 rpm) 处理 10 min。
3. 参考下表在 96 深孔板（自备）中依次分装试剂：

列 数	试 剂	体 积
第 1、7 列	异丙醇	300 µl
	处理好的样本	500 µl
	Proteinase K	40 µl
第 2、8 列	Wash Buffer A	500 µl
第 3、9 列	Wash Buffer A	500 µl
	Magbeads PM	20 µl
第 4、10 列	Wash Buffer B	500 µl
第 5、11 列	Wash Buffer B	500 µl
第 6、12 列	Nuclease-free ddH ₂ O	70 µl



4. 参考下表，设置核酸提取程序

步骤	磁棒位置	步骤名称	温度	释放磁珠	搅拌速度	时间	循环次数	磁吸次数	磁吸时间
1	1	裂解	65℃	是	中速	10 min	1	0	0
2	3	收集磁珠	0	否	快速	5 sec	1	2	3 sec
3	1	结合	0	是	中速	5 min	1	2	3 sec
4	2	漂洗	0	是	快速	2 min	1	2	3 sec
5	3	漂洗	0	是	快速	2 min	1	2	3 sec
6	4	漂洗	0	是	快速	2 min	1	2	3 sec
7	5	漂洗	0	是	快速	2 min	1	2	3 sec
8	5	干燥	0			5 min			
9	6	洗脱	56℃	是	中速	5 min	1	3	5 sec
10	3	释放磁珠	0	是	快速	5 sec			

5. 程序结束后，取出 96 孔板，将第 6、12 列中的洗脱液转移至新的离心管（自备）中，-20℃ 保存。

本产品仅供研究使用，请勿用于临床诊断