

磁珠法血流感染病原体 DNA 提取试剂盒

【产品介绍】

本试剂盒配合独特的血液裂解液分离、富集血流感染病原体，之后经物理和化学双重处理裂解释放病原体 DNA，再经硅基磁珠特异吸附，所得核酸纯度高。适合于从 1-5 mL 疑似血流感染阳性血液中分离、纯化病原体 DNA，血培前后样本皆可处理。所得病原体 DNA 可用于 PCR、文库构建等下游实验。

【特点】

- 裂解能力强，有效去除蛋白质、盐类、脂类等杂质，所得纯化产物纯度高。
- 特异的血液裂解液，可以分离、富集 10 CFU 的病原体，纯化得到血液基因组背景低的病原体核酸。

【试剂盒组成】

组分	目录号 MP-003-0 (50 次)	目录号 MP-003-1 (50 次)
血液裂解液 BCL-A	150 mL	150 mL
血液裂解液 BCL-B	60 mL	60 mL
裂解液 MBL	6 mL	6 mL
酸洗玻璃珠	6 g	6 g
结合液 MBB	12 mL	12 mL
去蛋白液 MCB	9 mL	9 mL
洗涤液 MWB	12 mL	12 mL
洗脱液 EB	6 mL	6 mL
蛋白酶 K (20 mg/mL)	550 µL	550 µL
RNase A (10 mg/mL)	/	550 µL
磁珠混悬液 C	1.1 mL	1.1 mL

【保存条件】

蛋白酶 K 和 RNase A 保存于-20 °C，试剂盒其它成分置于常温干燥处保存。

【操作步骤】

使用前添加 21 mL 无水乙醇到去蛋白液 MCB；添加 48 mL 无水乙醇到洗涤液 MWB；添加 12 mL 异丙醇到结合液 MBB，并做好标记。

1. 在 1-5 mL 样品中加入等体积的血液裂解液 BCL-A，振荡混匀 1 min，室温静置 2 min，15,000×g 离心 2 min，用枪头小心吸弃上清至剩余 200 µL，避免碰到管底沉淀。
2. 加入 1 mL 血液裂解液 BCL-B，振荡混匀 1 min，室温静置 2 min，15,000×g 离心 2 min，用枪头小心吸弃上清至剩余 100 µL，之后用枪头吹吸重悬沉淀。
3. 加入 100 µL 裂解液 MBL，50-100 mg 酸洗玻璃珠，振荡混匀 5 min（如需去除 RNA，

加入 10 μL RNase A, 混匀后室温孵育 2 min)。

4. 加入 400 μL 结合液 MBB (使用前确定已加入异丙醇) 以及 10 μL 蛋白酶 K, 65 °C加热 5 min, 期间震荡混匀数次加速裂解。
5. 短暂离心, 将除酸洗玻璃珠外的溶液全部转移到一干净的 1.5 mL 离心管中, 后加入 20 μL 磁珠混悬液 C, 涡旋混匀 1 min, 静置 2 min。
6. 将离心管短暂离心, 置于磁力架上, 待磁珠完全吸附于管壁, 吸去管内液体。
7. 取下离心管, 加入 500 μL 去蛋白液 MCB (使用前确定已加入无水乙醇), 涡旋混匀 2 min 后短暂离心, 置于磁力架上, 待磁珠完全吸附于管壁, 吸去管内液体。
8. 加入 500 μL 洗涤液 MWB (使用前确定已加入无水乙醇), 涡旋混匀 2 min 后短暂离心, 置于磁力架上, 待磁珠完全吸附于管壁, 吸去管内液体。
9. 重复步骤 8 一次。
10. 将离心管置于磁力架上, 室温晾干 5-10 min (也可置于超净台内风干至磁珠表面粗糙无水光, 勿风干过久使磁珠干裂)。
11. 取下离心管, 加入 100 μL 洗脱液 EB, 充分涡旋混匀, 置于 65 °C加热 5 min, 期间涡旋混匀两次。
12. 短暂离心, 将离心管置于磁力架上, 待磁珠完全吸附于管壁, 小心吸取磁珠外的洗脱液于干净的 1.5 mL 离心管中即为目标 DNA, 将其置于-20 °C长期保存。

【使用注意】

- 为避免产物污染或降解, 建议使用干净、无 DNase 污染的器械或耗材。
- 溶液使用前尽量充分混匀, 同时注意避免溶液间交叉污染。
- 本试剂盒按血液用量 3 mL 算。
- 本试剂盒不建议使用 4 °C冷藏超过 3 周的样本。
- 磁珠使用前充分涡旋混匀。
- 血培前样本建议加大样本用量, 后续搭配高灵敏度检测方法。