



版本号：202502V02

Magbead Pathogenic Microbiome DNA/RNA Kit (32 Auto Plate)

磁珠法病原微生物DNA/RNA提取试剂盒 (32通道预装型)

Cat. No. CW3061S-32

产品简介

本试剂盒提供了一种与CWE3200/CWE2100匹配，从痰液、肺泡灌洗液、血液、腹水等体液中纯化和富集病毒、细菌和真菌等病原微生物DNA及RNA的预装型产品。样品按要求加入96 DW深孔板后，将其放入CWE3200/CWE2100中后约40分钟即可得到高质量的DNA及RNA。用本试剂盒纯化的微生物DNA及RNA适用于多种下游应用，包括包括PCR、RT-PCR、荧光定量PCR、NGS等各种下游实验。

保存条件

室温 (10~30℃)

产品内容

Component	CW3061S-32 96 preps
96 DW Auto Plate	6 Plates
8 channel Comb	12 Strips
Buffer LBS-A	20 mL
Proteinase K	4×1.25 mL
Lysis Tubes II (96)	1

自备仪器、试剂

1. 32通道核酸提取仪 (CWE3200/CWE2100)
2. PBS缓冲液
3. 异丙醇

实验前准备及重要注意事项:

1. 使用前检查预装板中试剂是否存在漏液的情况。
2. 本试剂盒旨在从完整的微生物细胞中分离DNA及RNA, 为了保证微生物DNA及RNA的最佳回收效率, 样品应保证新鲜, 并避免反复冻融。如果需要短期储存或运输, 最好在2~8°C条件下进行, 长期保存可置于-20°C或-80°C冷冻保存。
3. 为避免由于污染造成的错误结果, 请保持工作区域清洁和穿防护服, 并合理设置对照品进行质控。采用适当措施处理样品材料, 降低交叉污染的风险。提取过程中, 使用DNA/RNA-free的移液器吸头和消耗品, 试剂使用完后立即盖好瓶盖, 防止污染。使用全自动核酸提取仪前后, 建议使用75%乙醇擦拭并开启紫外照射。

操作步骤

1. 将预装板从试剂盒中取出放入水平离心机中300×g离心10秒钟。
2. 将深孔板从离心机中取出, 小心去除热封膜, 期间防止深孔板震动。
3. 样本前处理:
 - 3.1 尿液、胸腹水、脑脊液等非粘稠体液样本
直接取400 μL样本进行提取。
 - 3.2 拭子类样本 (如鼻、咽及肛拭子等)
湿拭子样本 (含保存液): 涡旋振荡混匀后, 直接取400 μL进行提取。
干拭子样本: 将拭子棉签部分在0.5 mL PBS中旋转至少20 s, 取出棉签前将棉签在管壁上多次挤压, 使棉签内的菌液尽量挤出, 减少样本损失, 再取400 μL进行提取。
 - 3.3 痰液
取约500 μL样本, 加入2倍体积 (约1 mL) 的液化试剂Buffer GB1, 37°C, 600 rpm孵育15~30 min, 浓痰样本建议每隔5 min涡旋混匀一次至样本完全液化。取适量液化痰液样本至离心管中, 12,000 rpm离心5 min, 弃上清, 使用400 μL痰液上清液重悬沉淀。
注意: 样本体积可适当增减, 并相应调整Buffer GB1的加入量, Buffer GB1本试剂盒不提供。
稀痰样本可选10-15 min, 浓痰样本建议30 min, 视具体液化程度而定。

3.4 肺泡灌洗液

澄清样本：无需液化，直接取400 μL样本进行提取。

含有少量粘稠痰液样本：将尽量多的肺泡灌洗液样本先进行离心，留下层粘稠部分（含痰液、细胞、菌体）参照痰液样本进行液化处理，取400μL样本上清液重悬沉淀。

3.5 血液

血清、血浆可直接取400 μL进行提取；

少量全血样本（少于200 μL）使用PBS补足至400 μL后进行提取；

大体积全血样本推荐使用红细胞裂解液（CW0613）处理后再进行提取。

3.6 微生物培养物样本

细菌(≤1 × 10⁹ 个细胞), 真菌(≤1 × 10⁹ 个细胞)。

4. 向Lysis Tubes II中加入400 μL样本和200 μL Buffer LBS-A, 20 μL Proteinase K, 涡旋混匀, 采用以下任意一种震荡方式处理:

4.1 将Lysis Tubes II置于室温涡旋振荡10 min;

4.2 将Lysis Tubes II置于恒温混匀仪上65℃, 2500 rpm处理10 min(无法设置温度时可以不加热);

4.3 将Lysis Tubes II置于样本匀质仪中, 可根据不同品牌的仪器选择合适的程序进行裂解: 如使用MP公司FastPrep-24-5G (6 M/S的速度振荡30 sec, 间隔30 sec, 共6个循环)。

5. 震荡后室温12000 rpm离心1 min, 取全部上清 (约480-500 μL) 加入到预装板1&7列样本孔中, 再加入350 μL 异丙醇及20 μL Proteinase K。

6. 将加入样品的深孔板放入仪器中, 之后磁棒套固定在磁棒套架上。

7. 按下表编辑并运行提取程序:

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	56℃	否	慢速	10min	1	0	0
2	3	收集磁珠	0	否	快速	5s	1	2	30s
3	1	结合	0	是	中速	5min	1	2	10s
4	2	漂洗1	0	是	快速	2min	1	2	10s
5	3	漂洗2	0	是	快速	2min	1	2	10s
6	4	漂洗3	0	是	快速	2min	1	2	10s
7	5	漂洗4	0	是	快速	2min	1	2	10s
8	5	干燥	0			5min			
9	6	洗脱	56℃	是	快速	3min	1	0	0
10	6	静置	0			3min			
11	6	收集磁珠	0	否	快速	5s	1	2	30s
12	2	释放磁珠	0	是	快速	5s	1	0	0

8. 程序运行结束后, 取出96深孔板, 将第6、12列中的洗脱液转移至新离心管中, -20℃长期保存。