

污水样本核酸提取试剂盒

Sewage Sample Nucleic Acid Extraction Kit



产品货号: M7427S, M7427M

产品规格: 5 rxns, 50 rxns

储存条件: 2~35°C保存, 有效期见外包装

应用范围: 适用于生活污水、医疗机构污水中的细菌、病毒的核酸提取

产品组分

组分	组分含量	
	M7427S	M7427M
A. 裂解液	10 mL	100 mL
B. 结合液	10 mL	100 mL
C. 磁珠悬液	0.1 mL	1 mL
D. 洗涤液 A	15 mL	150 mL
E. 洗涤液 B	7.5 mL (首次使用加入 7.5 mL 异丙醇)	75 mL (首次使用加入 75 mL 异丙醇)
F. 洗涤液 C	4 mL (首次使用加入 16 mL 无水乙醇)	40 mL (首次使用加入 160 mL 无水乙醇)
G. 洗脱液	0.5 mL	5 mL
H. 蛋白酶 K	5 mg	50 mg
I. 溶液 A	0.5 mL	5 mL

产品介绍

本产品使用超顺磁性微球可以特异性的吸附核酸, 通过洗涤去除蛋白质、盐类等杂质, 洗脱液解离吸附在磁珠上的核酸, 分离纯化得到高质量核酸。

适用于生活污水、医疗机构污水中的细菌、病毒的核酸提取。本产品既可手动提取, 也适用于自动化核酸提取仪进行高通量全自动提取。提取的产物可用于各种分子生物学常规实验。

适用仪器

本试剂盒适用于 Thermo KingFisher Flex24 等大体积自动化核酸提取仪, 也适用于手动提取。

样本要求

1. 适用于生活污水、医疗机构污水、铝盐混凝沉淀法富集得到的污水病毒浓缩液上清。
2. 污水样本预离心: 取50 mL的污水样本在4°C、2500 g条件下离心30 min, 留取上清液备用, 剩余污水样本作为备份。

注: 当污水样本悬浮物含量过高, 可能影响核酸提取和实时荧光RT-PCR检测时, 应采用预离心弃除悬浮物后再进行后续操



作；提取污水中的细菌核酸不可预离心。

实验步骤

一. 首次使用前

1. 在洗涤液B中加入瓶身标签指定量的异丙醇（分析纯），并于“□”内打上“√”，混匀。在洗涤液C中加入瓶身标签指定量的无水乙醇（分析纯），并于“□”内打上“√”，混匀。
2. 在蛋白酶K中加入瓶身标签指定量的溶液A，并于“□”内打上“√”，混匀后保存于-20°C

二. 手动操作流程（1mL样本为例，其它样本体积参考表1）

1. 客户自备物品

- (1) 异丙醇（分析纯）
- (2) 15 mL离心管、1.5 mL离心管（DNase-free、RNase-free）
- (3) 单通道移液器：20 μ L、200 μ L、1000 μ L、5000 μ L
- (4) 涡旋振荡器
- (5) 垂直混匀仪
- (6) 水浴锅或金属浴
- (7) 磁性分离器：可选用磁性分离器，货号：M7429

注：每次使用前，试剂盒需平衡至室温。

2. 实验操作

- (1) 准备裂解液：裂解液65°C水浴5~10 min至试剂沉淀完全溶解。
 - (2) 裂解：取15 mL离心管加入1 mL污水样本（或200 μ L铝盐混凝沉淀法富集得到的污水病毒浓缩液上清与800 μ L纯化水），然后加入2 mL裂解液，再加入100 μ L蛋白酶K（检查是否已加入溶液 A），调整合适的转速涡旋振荡1 min，使其充分混合，再将离心管置于65°C加热10 min，间隔5min涡旋振荡30s。
 - (3) 结合：在上述15 mL离心管中加入2 mL结合液，2 mL异丙醇（自备），20 μ L磁珠悬液，室温垂直混匀10 min，将离心管置于磁性分离器上直至溶液澄清，用移液器移去上清液并取下离心管。
 - (4) 洗涤
 - a. 加入0.8 mL洗涤液A，使用移液器吸取管内液体吹打管壁磁珠至管底并混匀，把管内的磁珠悬液转移至1.5 mL离心管中，涡旋振荡1 min，将离心管置于磁性分离器上直至溶液澄清，用移液器移去上清液并取下离心管。
 - b. 加入0.8 mL洗涤液B（检查是否已加入异丙醇），涡旋振荡1 min，将离心管置于磁性分离器上直至溶液澄清，用移液器移去上清液并取下离心管。
 - c. 加入0.8 mL洗涤液C（检查是否已加入无水乙醇），涡旋振荡1 min，将离心管置于磁性分离器上直至溶液澄清，用移液器移去上清液并取下离心管。
 - d. 加入0.8 mL洗涤液C，涡旋振荡1 min，将离心管置于磁性分离器上直至溶液澄清，用移液器移去上清液并保持离心管于磁力架上。
- 注：步骤d应尽量除尽管内残留的液滴。
- (5) 干燥：保持离心管开盖置于磁力架上，室温放置3~10 min至表面无明显液体光泽。
 - (6) 洗脱：加入20~100 μ L洗脱液，涡旋振荡1 min使磁珠充分混匀，于65°C加热3 min后再涡旋振荡1 min，将离心管置于磁



性分离器上直至溶液澄清，转移上清液至新的1.5 mL离心管中，此即为纯化得到的核酸。

表1. 提取1~5 mL样本量对应使用的试剂

容器与试剂 \ 样本体积	1 mL	2 mL	3 mL	4 mL	5 mL
离心管类型	15 mL离心管		50 mL离心管		
裂解液	2 mL	4 mL	6 mL	8 mL	10 mL
蛋白酶K	100 μL	200 μL	300 μL	400 μL	500 μL
结合液	2 mL	4 mL	6 mL	8 mL	10 mL
异丙醇（自备）	2 mL	4 mL	6 mL	8 mL	10 mL
磁珠悬液	20 μL	40 μL	60 μL	80 μL	100 μL
洗涤液A	0.8 mL	0.8 mL	1 mL	1 mL	1 mL
洗涤液B	0.8 mL	0.8 mL	1 mL	1 mL	1 mL
洗涤液C	0.8+0.8 mL	0.8+0.8 mL	1+1 mL	1+1 mL	1+1 mL
洗脱液	20~100 μL	30~100 μL	40~100 μL	50~150 μL	60~150 μL

注：本产品的洗脱效率与洗脱液体积有关，洗脱液体积越大，洗脱的核酸总量越多，但浓度越低。

二、自动化操作流程

根据不同型号自动化核酸提取仪而定，详情请咨询技术支持。

注意事项

1. 试剂盒提前30 min从冰箱取出后平衡至室温。裂解液试剂瓶提前10 min放入水浴锅中65°C预热溶解后混匀。
2. 检查耗材并标记板号；检查所有深孔板底是否有损坏或裂缝；检查磁棒套是否有高低不平或歪斜。检查完毕后把磁棒套放入深孔板内，在磁棒套板的每个孔上方轻轻均匀按压使磁棒套复位。
3. 确认仪器状态正常及程序正常（用户可根据实际使用情况自行调整提取程序参数，如磁吸时间、干燥时间、洗脱体积等）。
4. 加入试剂与样本。移液枪插入孔底后把洗脱液加在中间凹陷位置，请勿加在两侧位置。本产品自动操作洗脱体积可低至50 μL，但需注意洗脱效率与洗脱液体积有关，洗脱液体积越大，洗脱效率越高，洗脱的核酸总量越多，但浓度越低。

