

MagicPure[®] Mycoplasma DNA Kit

使用前请仔细阅读说明书

目录号: EH401

版本号: Version 1.1

保存: 试剂盒在室温(15-25°C)保存一年。Carrier RNA (1 µg/µl)请保存于-20°C, 避免反复冻融。

产品说明

本试剂盒采用独特的裂解液消化裂解生物样品中的支原体细胞, 利用硅基磁珠特异性吸附并纯化支原体DNA。用于从≤400 µl生物样本中提取支原体的微量DNA片段。所得产物纯度高, 下游适用于搭配TransDetect[®] qPCR Mycoplasma Detection Kit (FM321)的支原体检测实验。本试剂盒适用于磁棒式高通量核酸提取仪。

特点

- 操作简便, 无需离心, 提取速度快。
- 提取量高, 纯度高。

试剂盒组成

Component	EH401-01/11 (50 rxns)
Binding Buffer 50 (BB50)	11 ml
Clean Buffer 50 (CB50)	25 ml
Wash Buffer 50 (WB50)	12 ml
Elution Buffer (EB)	10 ml
Proteinase K (20 mg/ml)	1 ml
Magnetic Mycoplasma Beads	1 ml
Carrier RNA (1 µg/µl)	100 µl
Magnetic Stand (16 hole)	1个/-

自备试剂和仪器

1 M HCl、1 M NaOH、异丙醇(分析纯)、高速离心机、恒温金属浴、涡旋振荡仪

样品要求

- 避免反复冻融样品。
- 含细胞样本: 细胞数应不高于 1×10^6 个。提取前应先用离心机将细胞富集, 随后取400 µl上清进行提取分析。
- 无细胞样本: 取400 µl样本进行提取分析。
- 若待检样品体积高于400 µl请浓缩至400 µl后再进行提取。
- 当样品为生物制剂中间品时请确保 pH 值为中性, 可使用氢氧化钠或盐酸调整样品的 pH 至中性 (pH 6.0~8.0) 再进行提取。
- 为确保实验结果可信:

建议增加阴性质控 (NCS) 样品, 同步进行核酸提取、定量检测步骤。用以测定核酸提取有无过程污染。

建议全部待提取样品加入内部质控品 (IC)。用以测定核酸提取有无抑制物残留。



操作步骤

使用前加不同体积无水乙醇到CB50与WB50中。

Component	EH401-01/11
Clean Buffer 50 (CB50)	25 ml
Wash Buffer 50 (WB50)	48 ml

所有磁分离均在室温中进行，磁珠在使用前，涡旋混匀。

阴性质控NCS样品制备：取400 μ l 1 \times TE Buffer或DNA稀释液作为单次NCS样品。

加标工作液制备：从下游所搭配的检测试剂盒（FM321）中取出内标质控品（IC），按下表比例吸取IC和Carrier RNA至1.5 ml离心管中，混匀后制备为加标工作液待用。

提取次数	IC	Carrier RNA
10 rxns	100 μ l	20 μ l
50 rxns	500 μ l	100 μ l

- 1、单次待测样本提取：取12 μ l加标工作液、20 μ l Proteinase K、400 μ l待测样品到1.5 ml离心管中。
单次NCS提取：取12 μ l加标工作液、20 μ l Proteinase K、400 μ l 阴性质控NCS样品到1.5 ml离心管中。
- 2、加入200 μ l裂解液BB50，涡旋混匀。
- 3、室温孵育10分钟，期间涡旋混匀1-2次。
- 4、加入200 μ l异丙醇，涡旋混匀10秒，加入20 μ l磁珠悬浮液（注意：磁珠在使用前，涡旋混匀）。
- 5、涡旋混匀1分钟，静置2分钟。
- 6、重复步骤5三次。
- 7、进行磁分离，吸弃磁珠以外的液体，避免吸到磁珠。
(磁分离操作建议：使用掌上离心机甩10秒，将管盖上的液体甩入管底，置于磁力架上静置30秒。)
- 8、取下离心管，加入800 μ l CB50（使用前检查是否已加入无水乙醇），涡旋混匀2分钟后进行磁分离，吸弃磁珠以外的液体，避免吸到磁珠。
(磁分离操作建议：使用掌上离心机甩10秒，将管盖上的液体甩入管底，置于磁力架上静置30秒。)
- 9、取下离心管，加入500 μ l WB50（使用前检查是否已加入无水乙醇），涡旋混匀2分钟后进行磁分离，吸弃磁珠以外的液体，避免吸到磁珠。
(磁分离操作建议：使用掌上离心机甩10秒，将管盖上的液体甩入管底，置于磁力架上静置30秒。)
- 10、重复步骤9一次。（吸弃操作建议：使用小量程移液器再次吸弃管底所有液体。液体残留将影响下游检测结果。）
- 11、将离心管置于磁力架上，开盖室温晾干8-10分钟。
- 12、取下离心管，加入100 μ l洗脱液EB，充分吹吸混匀后，置于65 $^{\circ}$ C，孵育5-10分钟，期间吹吸混匀两次。
- 13、将离心管置于磁力架上进行磁分离，吸取磁珠以外的液体于无菌的1.5 ml离心管中，避免吸到磁珠。DNA置于-20 $^{\circ}$ C保存。

注意事项

- 为保证所提取核酸的品质，避免样品反复冻融。
- 使用Nuclease-free的无菌离心管和枪头，避免DNase污染。
- 磁珠使用前一定要涡旋混匀。
- 为避免样本间污染，请做好环境消杀并及时更换枪头。

本产品仅供研究，不用于临床诊断。

版本号: V1.1-202311

服务电话 +86-10-57815020

服务邮箱 complaints@transgen.com

