



产品使用说明书

Rhinogen[®] 真菌&细菌 DNA 提取纯化 试剂盒

货号：RA-MT11



目 录

目 录	1
产品信息	2
试剂包装	2
保藏条件	2
产品综述	3
背景	3
概述	3
操作方法	4
所需设备	4
自备试剂	4
实验准备	4
手工提取步骤	4
自动化仪器提取步骤	5
注意事项	6
相关产品	7
联系我们	8

产品信息

试剂包装 Rhinogen® 真菌&细菌DNA提取纯化试剂盒（磁珠法-手动/自动）包装规格如下：

试剂组分	RA-MT11-50T	
	货号	规格
裂解液	RA-MT11A	10ml*1vial
消化液	RA-MT11B	1.1ml*1vial
结合液	RA-MT11C	4ml*1vial
洗涤液 A	RA-MT11D	17ml*1vial
洗涤液 B	RA-MT11E	12ml*1vial
磁珠悬浮液	RA-MT11F	1.1 ml*1vial
洗脱液	RA-MT11G	6 ml*1vial
样品处理管	RA-MT11H	52 个

保藏条件 采用干冰运输，收到产品后请将消化液（货号：RA-MT11B）放置2~8℃储存，其他组分置于室温储存，有效期为12个月。

产品综述

背景

无菌检测是确保医疗器械、药品及其他相关产品在生产过程中未被微生物污染的重要环节。其主要目的是通过科学的检测方法，验证产品的无菌状态，从而保障最终产品的安全性和有效性。

概述

Rhinogen® 真菌&细菌DNA 提取纯化试剂盒（磁珠法）用于提取纯化生物样品中的微量真菌&细菌DNA，适用样品包括主细胞库、工作细胞库等细胞培养物，疫苗、细胞治疗产品等生物制品，同时对高浓度细胞（ $\leq 10^6$ 个细胞）类复杂基质生物制品均适用。本试剂盒搭配全自动核酸提取仪（货号：RA-IP27），可实现样品的自动化处理。

操作方法

- 所需设备**
- ✓ 金属浴或水浴锅
 - ✓ 超声处理仪
 - ✓ 迷你离心机
 - ✓ 高速离心机
 - ✓ 涡旋混合仪
 - ✓ 磁力架
 - ✓ 超净台

- 自备试剂**
- ✓ 100%异丙醇（分析纯）
 - ✓ 无水乙醇（分析纯）

- 实验准备**
1. 开启新试剂盒时需完成以下工作（在I区进行下属试剂配制）：
 - 1) 向新开启的洗涤液A 中加入22ml无水乙醇，并在瓶子上作标记；
 - 2) 向新开启的洗涤液B 中加入28ml无水乙醇，并在瓶子上作标记。
 2. 每次实验前需预先完成以下工作：
 - 1) 准备100%异丙醇；
 - 2) 准备水浴温度：56℃。
 3. 每次实验建议同时做阴性对照（NCS）和阳性对照(PC)：
 - 1) 阴性对照（NCS）：每次实验中都需要设置一个NCS 作为阴性对照样品，取200μl 阴性质控（真菌/细菌DNA 检测试剂盒组分），与其他待测样品一起进行DNA 的提取和纯化操作，以评估实验过程中是否存在样品交叉污染或环境污染；
 - 2) 阳性对照（PC）：每次实验中都需要设置一个PC 作为阳性对照样品，取200μl 阳性质控（真菌/细菌DNA 检测试剂盒组分），与其他待测样品一起进行DNA 的提取和纯化操作，以评估实验过程中各操作步骤是否正确。
 4. 若待测样品细胞总量大于 10^6 ，则取1.2ml 样品以 $500\times g$ 离心5min，取1ml 上清进行提取。若待测样品细胞总量小于 10^6 ，可直接取1ml 样品进行提取；
 5. 如需检测大体积样品，可将样品14000rpm 离心15min，吸弃上清，留约1ml 液体悬浮沉淀，然后将剩余液体及沉淀全部转移至样品处理管中，后续操作按照正常操作流程进行即可。

- 手工提取步骤**
1. 取 1ml 样品加入样品处理管中，做好标记后，将样品处理管 14000rpm 离心 3min，吸弃 800μl 上清；

注：1) 阴性对照（NCS）：直接取 200μl 阴性质控（真菌/细菌 DNA 检测试剂盒组分）加入样品处理管中，进行下一步操作；

2) 阳性对照（PC）：直接取 200μl 阳性质控（真菌/细菌 DNA 检测试剂盒组分）加入样品处理管中，进行下一步操作。
 2. 向样品管中加入 10μl IC（真菌/细菌 DNA 检测试剂盒组分）、200μl 裂解液，充分涡旋混匀 30s；
 3. 将样品管放入超声处理仪中，超声处理 5min；

注：如不具备超声处理仪，也可用涡旋混匀器涡旋混匀 10min，涡旋混匀期间不可

中断混匀。

4. 将样品管 6000rpm 离心 10s, 加入 20 μ l 消化液, 充分涡旋混匀 1min;
5. 56 $^{\circ}$ C 消化 30min;
注: 期间间隔 5min 混匀 1 次, 使裂解消化更充分。
6. 样本消化后, 将样品处理管瞬时离心, 将样品处理管中的液体全部转移至新的 1.5ml EP 管中;
注: 建议将 200 μ l 移液器调节至 170 μ l, 多次转移液体, 避免吸到底部白色颗粒。
7. 加入 100 μ l 结合液, 充分涡旋混匀 30s, 瞬时离心后待用;
8. 加入 20 μ l 磁珠悬浮液以及 250 μ l 异丙醇, 充分涡旋混匀 5min, 瞬时离心后待用;
注: 磁珠悬浮液使用前请务必充分涡旋混匀, 加样过程中间隔 2-3 个样本需将磁珠再次涡旋混匀, 以保证每次加入的磁珠量的一致性。
9. 将离心管置于磁力架上至磁珠吸附完全, 保持离心管固定于磁力架上, 用移液器吸弃上清液, 期间避免接触磁珠;
10. 将离心管从磁力架上取下, 加入 700 μ l 洗涤液 A, 充分涡旋混匀 30s, 瞬时离心后重新置于磁力架上磁性分离, 待磁珠吸附完全后, 保持离心管固定于磁力架上, 用移液器吸弃上清液, 期间避免接触磁珠;
11. 将离心管从磁力架上取下, 加入 700 μ l 洗涤液 B, 充分涡旋混匀 30s, 瞬时离心后重新置于磁力架上磁性分离, 待磁珠吸附完全后, 保持离心管固定于磁力架上, 用移液器吸弃上清液, 期间避免接触磁珠;
12. 为保证液体充分移除, 需将离心管再次短暂离心 30s, 重新置于磁力架上磁性分离, 待磁珠完全分离后, 用 10 μ l 移液器小心的将残余液体吸弃干净;
13. 从磁力架上取下离心管, 打开管盖在室温下干燥 5min;
14. 沿离心管壁加入 100 μ l 洗脱液, 充分涡旋混匀 30s, 瞬时离心后置于 56 $^{\circ}$ C 温浴 5min, 期间间隔 2min 涡旋混匀 1 次;
15. 孵育完成后, 将离心管 12000rpm 离心 1min, 然后静置于磁力架上, 待磁珠分离后, 用移液器小心转移溶液到干净的离心管中, 所得液体即为样本纯化液。

自动化仪器提取步骤

1. 取 1ml 样品加入样品处理管中, 做好标记后, 将样品处理管 14000rpm 离心 3min, 吸弃 800 μ l 上清;
**注: 1) 阴性对照 (NCS): 直接取 200 μ l 阴性质控 (真菌/细菌 DNA 检测试剂盒组分) 加入样品处理管中, 进行下一步操作;
2) 阳性对照 (PC): 直接取 200 μ l 阳性质控 (真菌/细菌 DNA 检测试剂盒组分) 加入样品处理管中, 进行下一步操作。**
2. 向样品管中加入 10 μ l IC (真菌/细菌 DNA 检测试剂盒组分)、200 μ l 裂解液, 充分涡旋混匀 30s;
3. 将样品管放入超声处理仪中, 超声处理 5min;
注: 如不具备超声处理仪, 也可用涡旋混匀器涡旋混匀 5min, 涡旋混匀期间不可中断混匀。
4. 将样品管 6000rpm 离心 10s, 加入 20 μ l 消化液, 充分涡旋混匀 1min;
5. 56 $^{\circ}$ C 消化 30min;
注: 期间间隔 5min 混匀 1 次, 使裂解消化更充分。
6. 样本消化后, 将样品处理管瞬时离心, 将样品处理管中的液体全部转移至 96 孔深孔板第 1/7 列;

注：建议将 200 μ l 移液器调节至 170 μ l，多次转移液体，避免吸到底部白色颗粒。

7. 按照下表将试剂分装到 96 孔深孔板中：

槽位	第 1/7 列			第 3/9 列	第 4/10 列	第 6/12 列
试剂	结合液	磁珠	异丙醇	洗涤液 A	洗涤液 B	洗脱液
体积	100 μ l	20 μ l	250 μ l	700 μ l	700 μ l	100 μ l

注：磁珠工作液使用前请务必充分涡旋混匀，加样过程中间隔 2-3 个样本需将磁珠再次涡旋混匀，以保证每次加入的磁珠量的一致性。

8. 打开核酸自动提取仪电源，按以下程序设置核酸自动提取仪：

步骤	槽位	名称	等待时间 (S)	混合时间 (S)	磁吸时间 (S)	混合速度	体积 (μ l)	温度状态	温度 ($^{\circ}$ C)
1	第 1/7 列	结合	0	300	60	中速	800	无	-
2	第 3/9 列	洗涤 1	0	60	60	中速	700	无	-
3	第 4/10 列	洗涤 2	60	60	60	中速	700	无	-
4	第 6/12 列	洗脱	0	180	60	中速	100	洗脱加热	70
5	第 2/8 列	弃磁珠	0	30	0	中速	100	无	-

注：本程序适用于 RhinoBio 提供的提取仪，其它仪器机型可联系本公司技术咨询程序设定。

9. 将深孔板小心放入自动化核酸提取仪的卡槽中，套上磁棒套，运行程序；

10. 自动化程序结束后，将第 6 列的液体转移至干净的离心管中，所得液体即为样本纯化液。

注意事项

- 1、每次实验前、后均需用 75% 酒精或含氯消毒液对操作台、仪器设备进行全方位擦拭消毒处理，紫外灭菌不少于 30min；
- 2、实验区域做到严格分区，至少分三个单独的工作区域：试剂配制区（I 区）、样品处理区（II 区）、核酸扩增区（III 区），各实验区之间的试剂、标本传递应通过传递窗进行，各实验区的设备、耗材等不能交叉使用；
- 3、实验过程中避免触碰到样品离心管内盖，实验过程中勤换手套；
- 4、实验过程中需使用无菌低吸附带滤芯枪头、无菌 EP 管（DNase/RNase free）；
- 5、磁珠悬浮液使用前严禁冷冻和离心，以免损伤磁珠，磁珠在使用前务必充分混匀；
- 6、裂解液、结合液在低于 10 $^{\circ}$ C 时可能出现白色结晶，若出现沉淀，请 37 $^{\circ}$ C 水浴重新溶解后使用；
- 7、请尽量在完成样本纯化处理当天进行后续的 DNA 检测，以保证检测结果的准确性；
- 8、请务必仔细阅读本试剂盒说明书，并严格按照操作步骤完成操作。

相关产品

产品名称	货号
MycoAlarm™ 支原体检测试剂盒	RA-MT01
Myco-Visal™ 一步法快速支原体检测试剂盒	RA-MT03
Myco-EXT™ 支原体DNA提取纯化试剂盒（磁珠法）	RA-MT04
Myco-Acid™ qPCR支原体检测试剂盒	RA-MT05
Myco-Acid™ PCR支原体检测试剂盒	RA-MT06
Myco-EXT™ 支原体DNA自动化提取试剂盒（非预装）	RA-MT07
Myco-EXT™ 支原体DNA自动化提取试剂盒（预装）	RA-MT08
细菌DNA检测试剂盒	RA-MT09
真菌DNA检测试剂盒	RA-MT10
全自动核酸提取仪	RA-IP27

联系我们

如果您需要帮助，我们的客户支持专家可以通过电话和 email 为您提供帮助：

- 电 话：[0512-87663137](tel:0512-87663137)
 - 技术支持：techserv@rhinobio.com
-

RHINO BIO



上海瑞诺生物科技有限公司
苏州瑞特佰生物科技有限公司
网 址: www.rhinobio.com
电 话: 0512-87663137
邮 箱: techserv@rhinobio.com



公众号



联系客服

