

UPure Virus RNA Plus Kit (M2006P)

病毒 DNA/RNA 提取操作流程

适配 Allsheng Auto-Pure 32A

实验前准备工作：

1. 自动化提取仪：使用前可进行紫外消毒。
2. Buffer 制备：首次开封使用时，按照瓶身标签所示，向 *Wash Buffer* 中加入无水乙醇并混匀。
3. Buffer 检查：*Buffer LNB* 需避光保存。
4. 预分装试剂盒检查：使用前检查磁珠是否粘在封口膜上，若出现此类情况可将试剂预分装板上下摇晃混匀后静置几分钟，或于离心机短暂离心后使用。

一、样本预处理

A. 血液样本

1500g 离心 10min，离心后冰浴 3-5min，取 200μL 血清上机提取。

B. 血清样本

直接吸取 200 μL 血清样本提取。

C. 组织样本

取干净的离心管加入适配组织匀浆机的钢珠，取约 20 mg 组织样本和 400 μL PBS 缓冲液至离心管中，按组织匀浆机说明进行匀浆处理。匀浆完成后，12000 rpm 离心 5 min 后取 200μL 上清即为样本预处理液。

D. 拭子样本

有保存液的拭子样本取 300 μL 保存液上机，如果没有保存液的样本，用 700 μL 左右生理盐水或 PBS 缓冲液浸泡样本 10 min（以刚好完全浸泡拭子头为宜），吸取 300 μL 样本预处理液进行上机提取。

E. 唾液、痰液或肺泡灌洗液（建议灭活后再提取）

吸取 200~300 μL 上清进行提取。

F. 粪便：取 1 mL 预处理液（如用 PBS 缓冲液），挑取黄豆大小的粪便至管中，轻轻吹吸 3-5 次，室温静置 10 min，8000 rpm 离心 5 min，吸取 200 μL 上清提取。

二、自动化提取

1. 取 96 孔板，按照下表 1 加入样本和试剂至深孔板中。若为盒装试剂盒，以下试剂都需自行加入。

注意：

1. 每一孔的总体积不能超过 900μL，否则可能溢出。
2. 为提高样本裂解效果，可在第 1 列/第 7 列加入 20μL 蛋白酶 K。

表 1. 96 孔板设置及试剂用量

孔位	预处理液/试剂	体积(μL)
第 1 列/第 7 列	Buffer LNB	600
	样本预处理液	≤300
	蛋白酶 K	20
第 2 列/第 8 列	Wash Buffer	600
第 3 列/第 9 列	75%乙醇	600
第 4 列/第 10 列	75%乙醇	600
第 5 列/第 11 列	75%乙醇	600
	Virus Beads	30
第 6 列/第 12 列	Elution Buffer	60

2. 启动仪器，在仪器中放置好新的洁净磁棒套（**切记更换新的磁棒套，否则会造成样本交叉污染**），并将装有样品和试剂的深孔板放到仪器中，与磁棒套相对应。
- 注意：****切记放置磁棒套，否则溶液会腐蚀磁棒，影响仪器性能和后续实验。**
3. 执行程序（表 2）。
4. 收集产物：取出 96 孔板和磁棒套，吸取第 6/12 列中的提取产物至干净的 EP 管中，检测后于 -20℃或 -80℃保存。

表 2. Allsheng Auto-Pure 32A 提取程序设置（吸磁选项设置为“**往复吸磁**”）

孔位	步骤名称	混合时间 (min)	吸磁时间(sec)	等待时间 (min)	容积 (μl)	混合速度 (1-10)	温度 (°C)	混合位置 (1-100%)	混合幅度 (1-100%)	吸磁位置 (1-100%)	吸磁速度(1-10)
5	Collect	0.2	30	0	600	8	OFF	0	80	0	1
1	Binding	10	30	0	900	8	65	0	80	0	1
2	Wash 1	1	30	0	600	8	OFF	0	80	0	1
3	Wash 2	1	30	0	600	8	OFF	0	80	0	1
4	Wash 3	1	30	3	600	8	OFF	0	80	0	1
6	Elution	5	90	0	60	8	65	0	80	0	1
4	Drop	0.2	0	0	600	8	OFF	0	80	0	1

说明书更改日期：20210326

如果上述方法均不能解决您的问题，请联系我们技术支持部门。