

AccuGen[®] 病原核酸萃取試劑盒說明書

規格：50 reactions

版本：V2.1

目 錄

1. 產品簡介	3
2. 主要內容物	3
3. 儲存條件及有效期限	3
4. 適用範圍	3
5. 檢驗方法	4
5.1 工作前環境清潔	4
5.2 試劑準備工作	4
5.3 樣本前處理	4
5.4 萃取步驟	4
5.5 工作後環境清潔	5

1. 產品簡介

產品名稱：AccuGen[®] 病原核酸萃取試劑盒

產品型號：240005001

產品規格：50 reactions / 盒

產品用途：用於核酸的萃取、富集、純化等步驟

檢驗原理：本試劑盒採用具有獨特分離作用的磁珠和緩衝液系統，快速及有效的從樣本中萃取病毒、細菌和真菌 DNA 和 RNA。利用磁珠與 DNA/RNA 分子特異性地識別和高效結合，通過清洗及純化過程得到高純度的 DNA/RNA。

2. 主要內容物

試劑名稱	數量
Lysis Buffer	27 mL
Wash Buffer 1	43 mL
Wash Buffer 2	20 mL
Elution Buffer	6 mL
Magnetic Beads	1.1 mL
Carrier RNA	0.275 mL
Proteinase K	1.1 mL

3. 儲存條件及有效期限

Carrier RNA 常溫運輸，長期保存需存放於-20±5℃；其餘成分常溫運輸，常溫保存，有效期為 12 個月。

4. 適用範圍

適用標本類型：全血、血清、血漿、咽/鼻拭子、痰液、肺泡灌洗液、尿液、培養液等。

5. 檢驗方法

5.1 工作前環境清潔

- (1) 萃取步驟建議於生物安全操作櫃內操作，生物安全操作櫃使用前需使用 UV 紫外燈照射 15 分鐘。
- (2) 紫消結束，以漂白水噴溼擦手紙擦拭操作櫃檯面。生物安全操作櫃以外之實驗桌以 75 %酒精噴溼擦手紙擦拭桌面。

5.2 試劑準備工作

- (1) 首次使用本試劑盒前，請參照瓶身標籤於 Wash Buffer 1 中加入 57 mL 無水酒精；於 Wash Buffer 2 中加入 80 mL 無水酒精，並進行標示。
- (2) 若處理痰液樣本，則需事先配製化痰液；化痰液使用 N-Acetyl-L-cysteine (建議品牌：Sigma，貨號：A7250)，以 ddH₂O 依 10 g/L 的濃度配製，建議配製後以 0.22 μ m 過濾器過濾後再使用。

5.3 樣本前處理

痰液樣本	痰液樣本需加入適量化痰液 (約10 mL)，作用 30 分鐘進行液化。
尿液樣本	尿液樣本需按照 1:50 加入前處理液 (以 300 μ L 待測樣本為例，加入 6 μ L 前處理液)，震盪 15 秒後，短暫離心，室溫放置 5 分鐘。
全血、血清、血漿、咽/鼻拭子、肺泡灌洗液、培養液等樣本	不需前處理，直接進行萃取步驟。

5.4 萃取步驟

- (1) 取 500 μ L 完成前處理的痰液、尿液樣本或其他生物液體樣本至破壁管；
- (2) 若樣本體積 > 500 μ L，則轉移樣本至 1.5 mL Nuclease-free Tube，12,000 rpm (13,800 $\times$ g) 離心 5 分鐘，移除上清液，再以 500 μ L PBS 重新懸浮沉澱物並全部轉移至破壁管；
- (3) 若樣本體積 < 500 μ L，則使用 PBS 補足體積至 500 μ L，混和均勻後，全部轉移至破壁管。
- (4) 將含有 500 μ L 待測樣本的研磨珠破壁管，置於生物樣品均質機中，破碎條件：7.0 m/sec，on 90 sec，off 2 min，3 cycles (以 MP FastPrep-24[™] 為例，可依不同破碎儀器調整破碎條件)；

- (5) 破碎後的樣本離心 1 分鐘以消除泡沫，並加入 20 μ L Proteinase K，混勻，56 $^{\circ}$ C 加熱 20 分鐘；
- (6) 完成加熱後，將管內液體轉移到新的 2 mL 微量離心管，轉移時需將管內樣本吸乾淨，吸到少量研磨珠沒關係；
- (7) 在含有 500 μ L 待測樣本的離心管中，加入 500 μ L Lysis Buffer、20 μ L 磁珠、5 μ L Carrier RNA，震盪 15 秒，短暫離心；
- (8) 以 45 $^{\circ}$ C 加熱 8 分鐘，震盪 5 秒，短暫離心；
- (9) 取出樣品，同時將溫度調至 55 $^{\circ}$ C，開始預熱 Elution Buffer；
- (10) 將樣本置於磁座上磁吸 30 秒，去上清液；
- (11) 將離心管從磁座上取下，加入 900 μ L Wash Buffer 1，震盪 15 秒，短暫離心，將樣本置於磁座上磁吸 30 秒，去上清液；
- (12) 將離心管從磁座上取下，加入 900 μ L Wash Buffer 1，震盪 15 秒，短暫離心，將樣本置於磁座上磁吸 30 秒，去上清液；
- (13) 將離心管從磁座上取下，加入 900 μ L Wash Buffer 2，震盪 10 秒，短暫離心，將樣本置於磁座上磁吸 30 秒，去上清液；
- (14) 將離心管從磁座上取下，加入 900 μ L Wash Buffer 2，震盪 10 秒，短暫離心，將樣本置於磁座上磁吸 30 秒，去上清液；
- (15) 短暫離心，將樣本置於磁座上，去除剩餘上清液，開蓋室溫乾燥 1-2 分鐘；
- (16) 將離心管從磁座上取下，加入 50~200 μ L (建議 80 μ L) 已預熱至 55 $^{\circ}$ C 的 Elution Buffer，重新懸浮磁珠；
- (17) 將全部磁珠和液體轉移至新的 1.5 mL 離心管中，以 50 $^{\circ}$ C 加熱 5 分鐘，震盪 5 秒，再以 50 $^{\circ}$ C 加熱 5 分鐘；
- (18) 磁吸至溶液澄清，將液體轉移至新的 1.5 mL Nuclease-free Tube 中，即為所萃取的 DNA/RNA。

※ 如果DNA/RNA不立即使用，請存儲於-20 $^{\circ}$ C或者更低的溫度，長期保存請放置-70 $^{\circ}$ C以下。

5.5 工作後環境清潔

- (1) 實驗結束，生物安全操作櫃先以 UV 紫外燈照射 15 分鐘，再將採檢管、實驗廢棄物丟棄至感染性廢棄物垃圾桶。
- (2) 廢棄物丟棄後，以 75 % 酒精噴溼擦手紙擦拭生物安全操作櫃使用檯面、牆面及操作櫃外實驗桌面。可行時，進行全室 UV 紫外燈照射 15 分鐘。

