

## **BROFIX 微生物捕获磁珠操作说明书—简易版（2025.12）**

### **一、血液体系操作步骤（1 mL 样本为例）：**

- 使用 5  $\mu$ m 滤芯和注射器对血液进行过滤；
- 过滤后血液按照 1:1 的比例加入红细胞裂解液，混匀震荡 15 min；
- 8000 rpm 离心 5 min，弃去上清；
- 加入 300  $\mu$ L PBS，重悬溶液，8000 rpm 离心 5min，弃去上清；
- 加入 100  $\mu$ L PBS，重悬溶液，转移至新的 EP 管中；
- 加入 20  $\mu$ L 磁珠，吹打 8~10 次后静置 2 min（或旋转混合 2~5 min），磁吸 2 min 后，弃去上清液；
- 打开瓶盖晾 2~5 min；
- 加入 20  $\mu$ L 细菌类核酸提取裂解，95°C 水浴 10~15 min；
- 10000 rpm 离心 10 s，磁吸 2 min，将溶液转移至新的 EP 管。
- 取 2  $\mu$ L PCR。

### **二、痰液体系操作步骤（1 mL 样本为例）：**

- 痰液： NaOH（1M）=1:1 液化，振荡混匀室温 15 min；  
或者：1 mL 痰液+0.1 mL 痰液液化液 A 现配：5M NaOH+2.5% NALC，温育 15 min；
- 取 1 mL 液化的痰液，加入 60  $\mu$ L 磁珠与 250  $\mu$ L 增强液的混合液，吹打 8~10 次后室温旋转孵育 10 min；
- 磁吸后用 1 mL PBS 清洗一次，然后磁吸后弃上清；
- 加 20  $\mu$ L TB 裂解液 1X，95°C 水浴 10~15 min；；
- 取 2  $\mu$ L PCR。

### **三、尿液体系操作步骤（1~10 mL 样本为例）：**

#### **A：病毒检测：**

- 取新鲜尿液样本 1~10 mL，6000 rpm 离心 2~3 min；
- 将上层大部分上清液转移至新的离心管；
- 加入 20~200  $\mu$ L 磁珠，吹打 8~10 次后静置 2 min（或旋转混合 2~5 min）；
- 磁吸 2 min，充分弃去余液；
- 加入 20~200  $\mu$ L 病毒类核酸提取裂解，50°C 水浴 5 min；
- 10000 rpm 离心 10 s，磁吸 2 min，将溶液转移至新的 EP 管；
- 取 2  $\mu$ L PCR。

#### **B：微生物检测：**

- 取新鲜尿液样本 1~10 mL，静置 1 min 去除可能得大颗粒物；或者使用 5  $\mu$ m 滤芯和注射器对尿液进行过滤；

- 加入 20~200  $\mu\text{L}$  磁珠，吹打 8~10 次后静置 2 min（或旋转混合 2~5 min）；
- 磁吸 2 min，充分弃去余液；
- 加入 20~200  $\mu\text{L}$  细菌类核酸提取裂解，95°C 水浴 10~15 min；
- 10000 rpm 离心 10 s，磁吸 2 min，将溶液转移至新的 EP 管。
- 取 2  $\mu\text{L}$  PCR。

#### 四、水、培养基、积液类体系操作步骤（1 mL 样本为例）：

- 取 1 mL 样本，加入 20  $\mu\text{L}$  磁珠，吹打 8~10 次后静置 2 min（或旋转混合 2~5 min）；根据不同样本，可以选择先用 0.22  $\mu\text{m}$ 、0.45  $\mu\text{m}$ 、1  $\mu\text{m}$ 、2  $\mu\text{m}$ 、5  $\mu\text{m}$  过滤器进行过滤处理后再加入磁珠。
- 磁吸 2 分钟后，弃去上清液；
- 对于细菌类，加入 20  $\mu\text{L}$  细菌类核酸提取裂解，95°C 水浴 10~15 min；
- 对于病毒类，加入 20  $\mu\text{L}$  病毒类核酸提取裂解，50°C 水浴 5 min；
- 10000 rpm 离心 10 s，磁吸 2 min，将溶液转移至新的 EP 管；
- 取 2  $\mu\text{L}$  PCR。

#### 推荐的 PCR 体系：

组分	体系 20 $\mu\text{L}$
预混液	10 $\mu\text{L}$
Primer F（10 $\mu\text{M}$ ）	1 $\mu\text{L}$
Primer R（10 $\mu\text{M}$ ）	1 $\mu\text{L}$
样本	3 $\mu\text{L}$
H <sub>2</sub> O	To 20 $\mu\text{L}$

#### 推荐的 PCR 程序：

步骤	温度	时间	循环数
预变性	95°C	2 min	1 cycle
变性	95°C	10s	40 cycle
退火/延伸	60°C	20s	
熔解曲线阶段	仪器默认		1 cycle

#### 说明：

1.以上为本公司对基于 1 mL 的检测样本进行了操作步骤的优化，建议用户先按照本说明进行试验，如果效果不理想，再进行参数调整；

2.通常 1mL 样本对应 20  $\mu\text{L}$  磁珠(1 mg)，如检测样本体积变化，需要将磁珠量、裂解液量进行等比例变化。

## 【问题反馈及技术支持】

电话：0512-68769279

邮箱：info@brobio.cn

网址：www.brofix.cn 公众号：



版 本 号：V02

修订日期：2025 年 12 月