AlNoVar™ RNA&DNA Library Prep Kit for UNIPre

产 品 说 明 书 • P R O D U C T D E S C R I P T I O N

ME Instruments Inc.
铭 毅 智 造

产品概述

本预装卡盒式试剂盒为自动化文库构建试剂盒，主要用于检测产品在 UNIPre 全自动基因检测文库制备仪上进行文库构建工作，高度自动化以及封闭反应系统，可以最大程度避免样本间交叉污染，保证文库质量及检测结果的准确性。本试剂盒适用于 Illumina 及铭毅智造等多款 NGS 测序平台，由逆转录、双链 cDNA 合成、片段化、末端修复，接头连接和高保真 PCR 富集所需的预混酶模块组成，搭配不同测序平台接头以及测序引物试剂盒，可将提取的 RNA&DNA 样本制备成适配多款 NGS 测序平台使用的 DNA 文库。试剂盒操作简便，文库产量稳定，可提供高质量的 DNA 文库。

产品货号

MEK0516-24T

预期用途

本试剂盒适用于 RNA&DNA **共建库**文库构建环节，获得适用于二代高通量测序文库。

本仪器检测结果仅供临床参考，不能单独作为确诊或排除病例的依据。

包装规格

24 人份/盒

适用仪器

UNIPre 全自动基因检测文库制备仪

产品组成及规格

包装盒	组分	规格	数量	储存条件
Box 1	RNA&DNA 自动化建库试剂板	1 test/板	24 板	-20 ℃
Box 2	纯化磁珠	4.8 mL/瓶	1 瓶	4 ℃
Box 3	组合圆筒	1 test/套	24 套	常温

程序选择：

投入量 100ng-10ng 时，选择 AlNoVar™ RNA&DNA Library Prep Kit for UNIPre-大投入量程序 V1.0

投入量＜10ng 时，选择 AlNoVar™ RNA&DNA Library Prep Kit for UNIPre-小投入量程序 V1.0

储存条件及有效期

1 Box 1 应于-20±5℃储存，反复冻融次数不超过 4 次，不应与有污染物品的样本混存。

2 Box 2 应于 4 ℃储存，有效期 12 个月。

3 Box 3 常温保存。

4 生产日期及失效日期见试剂盒标签。

自备物料

用途	试剂盒名称	货号/型号	生产企业
试剂	Qubit™ dsDNA HS Assay Kit	12640ES76	翌圣
	UltraPure Dnase-Free Distilled Water	10977015	Life
	Index Mix	用户自备	用户自备
设备	荧光计	MGN-FX2	迈基诺
	微孔板离心机	BE-6100	迈基诺
耗材	QUBIT ASSAY TUBES SET OF 500	Q32856	Life

注意事项

（1）试剂准备

试剂不应与有污染物品的样本混存。

试剂组分避免反复冻融。

（2）样本要求

1．适用的样本类型：肺泡灌洗液、咽拭子、全血等

2．样本采集

参照《临床微生物标本采集和送检指南》采集样本。

2.1 肺泡灌洗液：

患者咽喉局部麻醉后，导入纤维支气管镜。通过纤维支气管镜对病灶所在支气管以下肺段或亚肺段水平，用 37 ℃或室温无菌生理盐水多次灌洗。收集回收液 3-5 mL 于无菌管中。

2.2 咽拭子：

取出咽拭子中的无菌长棉签，快速擦拭两侧腭弓和咽、扁桃体的分泌物，扁桃体有脓点时最好挤破脓点并采集脓性物，将棉签插入运送管，盖紧送检。

2.3 全血：

采用静脉采血，使用 EDTA 抗凝采血管，无明显溶血或凝血现象，样本量不少于 5 mL，盖紧送检。

3. 样本送检要求

取样后应尽快送检，或按要求密封保存。

样本 2-8℃保存不超过 7 天；-20℃±5℃保存不超过 12 个月；长期保存应置于-60 ℃以下。冻融不超过 5 次。

（3）其它注意事项

试验开始前，请清洁操作台。

试验前请仔细阅读说明书，严格按照说明书操作。

实验流程

1.准备试剂板

1.1 试剂板展示

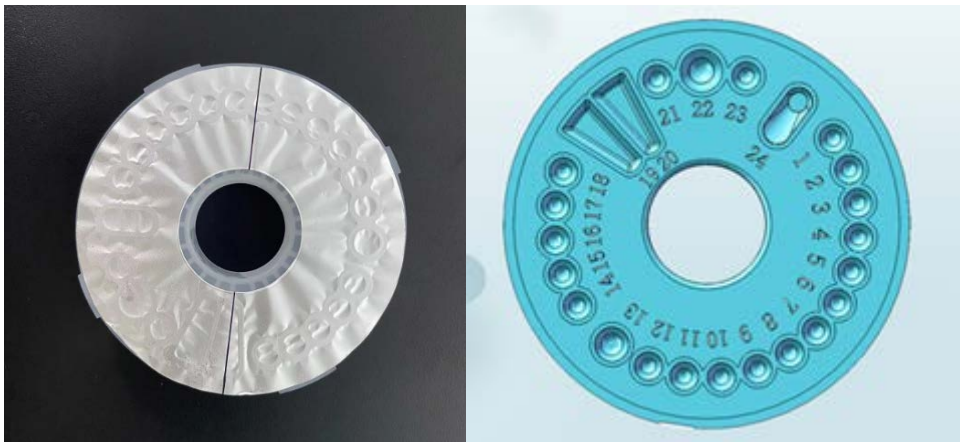


图 1：样本板及对应孔号

1.2 预分装试剂板加样

1.2.1 在-20℃冰箱中取出试剂板，解冻后瞬时离心，置于冰盒上待用；4℃冰箱中取出纯化磁珠，常温放置 30 分钟后取用。

1.2.2 在试剂准备间参照加样表格，用枪头戳破 2/21/22/23 号孔铝膜，分别加入对应体积的 Index Mix 和纯化磁珠，确认试剂加入到样本板底部，无气泡产生，将试剂板转移到加样区，进行加样操作。

1.2.3 在加样操作区参照加样表格，用枪头戳破 18 号孔铝膜，分别加入 100ng 待测样本，确认样本加入到样本板底部，无气泡产生，进行后续上机操作。

注：a.加样过程中在冰盒上进行操作，加样完成后确认各孔位试剂处于试剂板底部、无气泡。

b.若模板核酸浓度≥10 ng /μL，投入量为100 ng，后补水至8 μL；若＜10 ng /μL，则投入量为8 μL。

预分装试剂加样表		
孔号	试剂组分	总体积（μL）
2	Index Mix	5 μL
18	DNA&RNA	X，补水 8-X μL
21	纯化磁珠	50 μL
22	纯化磁珠	80 μL
23	纯化磁珠	50 μL

1.3 组装样本板

1.3.1 取出组合圆筒，确认各部分耗材是否正常，底部确认枪头是否处于圆孔中心位置，如果位置偏移需进行调整或更换耗材。



1.3.2 将组合圆筒卡入到已加好样本的试剂板上，旋转圆筒，使枪头盒外槽与样本板对齐放置好（枪头对准试剂板 11 号孔的位置），耗材上有对应凸起标识做匹配，再次确认试剂耗材安装无误后，放入 UNIPre 自动化建库设备上进行后续上机实验。



组装完成的样本板与枪头盒

2.载入程序

2.1 电脑开机进入桌面，双击“UNIPre-快捷方式”，进入登录页面；



2.2 点击“立即登录”进入主界面；



2.3 点击“开始运行”进入运行界面；



2.4 点击右上角“设备管理”，可以查看设备连接状态；



2.5 若设备未连接，可点击“添加设备”并输入设备IP进行连接；



2.6 点击“程序选择”，导入建库程序；



注：自动化程序版本名称与建库试剂版本对应，此处只为演示用。

2.7 选择所需程序，点击“确定”载入程序；

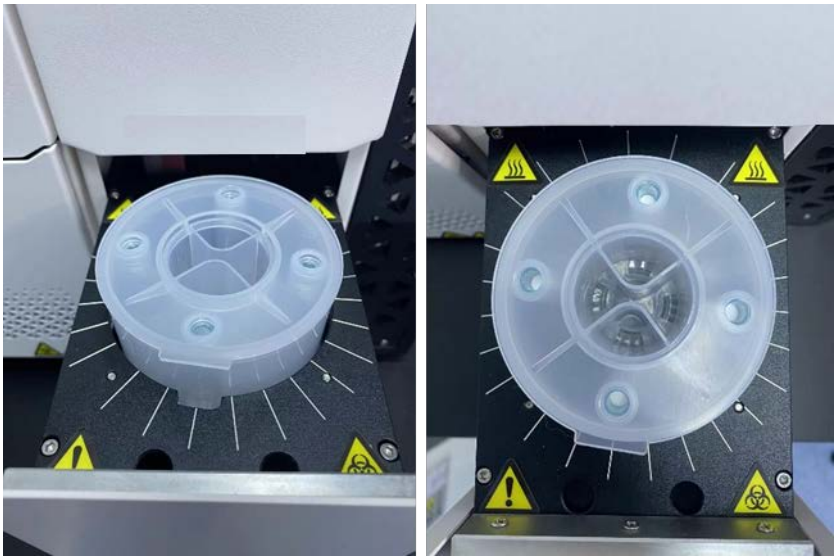


3.开始上机

3.1 载入程序后，点击“出舱”打开样本舱；

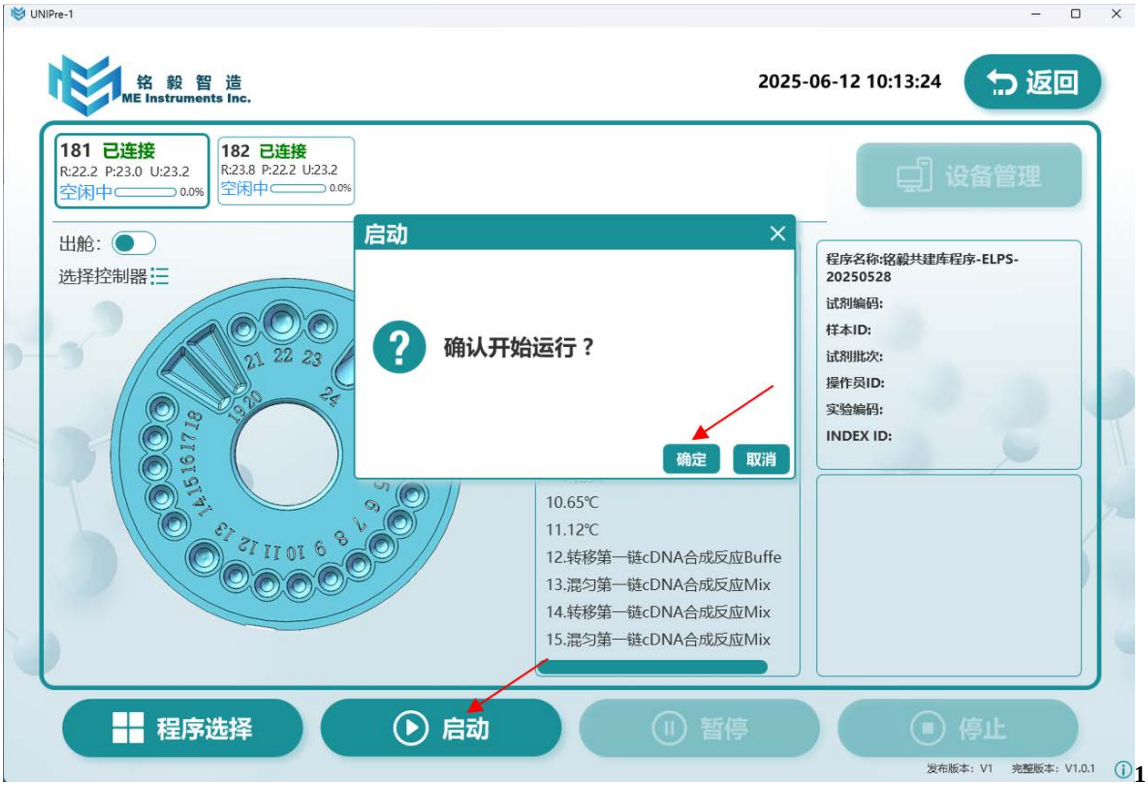


3.2 将组装好的样本板放入样本舱中；



注：样本板要与舱中卡槽对齐放置。

3.3 样板放置完成后，点击“启动”，“确定”开始自动化建库。



11.44

4.文库下机

4.1 程序运行结束后，点击右下框中“完成”使各个模块回到初始位置；



4.2 点击“出舱”将样本板从舱中取出，之后将样本舱复位；

4.3 吸取样本板 1 号孔位中的建库产物（30 μL）到新的 1.5 mL 离心管中备用。

5.文库质控

浓度质控：文库建议使用 Qubit dsDNA HS Assay Kit 及配套仪器测定 DNA 文库浓度。若文库核酸浓度≥1 ng/μL，总量≥30 ng，质控合格。若文库核酸浓度＜1 ng/μL，总量＜30 ng，需要重复文库制备实验，并质检，若文库质量再次不合格，检测终止。

【注意事项】

1 本仪器仅用于文库构建，使用前请仔细阅读本说明书，所有操作须严格按说明书进行。

2 试验前请熟悉和掌握需使用的各种仪器的操作方法和注意事项，对每次实验进行质量控制。

3 实验室管理应严格按照 PCR 基因扩增实验室的管理规范，实验人员必须进行专业培训。

4 样本操作、废弃物处理均需符合相关法规要求：卫生部《医学实验室生物安全通用准则》和《医疗废物管理条例》。

5 所有的试剂在使用前，均需在充分融化、混匀后使用。

6 为防止污染，使用本仪器时建议用一次性耗材。实验完毕用 10%次氯酸 钠溶液、75%酒精或紫外灯处理工作舱。