

核酸提取或纯化试剂盒Ⅱ（磁珠法）

说明书

货号：BP-QN11-100

版本：07 版

本产品仅供研究用

珠海横琴宝锐生物科技有限公司

【产品名称】

通用名称：核酸提取或纯化试剂盒Ⅱ（磁珠法）
英文名称：Nucleic Acid Extraction Kit Ⅱ（Magnetic Beads Method）

【包装规格】

100 Reactions/盒

【预期用途】

用于核酸的提取、富集、纯化等步骤，其处理后的产物用于 PCR 检测使用。

【适用范围】

本产品提取的核酸产量大，纯度高，可广泛应用于生物制药质量控制、疾病检测等领域。

【适配设备说明】

干式恒温器、磁力架、涡旋混匀器、反应容器、离心机等。

【实验所需但试剂盒中未含材料】

无水乙醇、异丙醇等。

【检测原理】

本试剂盒使用胍盐溶液将样本中的核酸释放，然后采用异丙醇提高磁珠吸附核酸的效果，同时通过含乙醇的洗液更好的去除蛋白和盐类的残留，最终用洗脱液在高温条件下将吸附在特异性磁珠上的核酸洗脱下来^[1-2]。

【主要组成成分】

组分	100 Reactions/盒
裂解液	27.6mL×1 瓶（开封后加入 32.4mL 异丙醇）
洗液	20mL×1 瓶（开封后加入 80mL 无水乙醇）
洗脱液	10mL×1 瓶
磁珠 A	1.0mL×1 管
蛋白酶 K	1.0mL×1 管
说明书	1 份

注：不同批号试剂盒中各组分不可以互换，组分所标示的试剂量为最低分装量。

【储存条件及有效期】

- 1、试剂盒于室温储存，有效期 24 个月。
- 2、试剂盒应禁止冷冻，避免强光照射。
- 3、产品批号及有效期见产品外包装。

【适用仪器】

本试剂盒适配宝泰仪 32 通道全自动核酸提取仪 BTE-32PH 及其他经验证满足试剂提取条件的核酸提取自动化设备。

【样本准备】

- 1、样本稀释：如果待检测样本是生物制品纯化过程中的上游中间样本，可能含有较高的 DNA 含量。为了保证检测的准确性，使样本的检测值在标准曲线线性范围之内，可以用 DNA 稀释液或 1×PBS

- (pH7.4, 无 Ca^{2+} 和 Mg^{2+}) 等对高 DNA 含量样本进行适当比例的稀释后再进行样本纯化处理; 也可以在样本纯化处理完成之后, 用稀释液对纯化处理后的样本进行稀释, 然后再进行 DNA 残留检测。一般可考虑将高 DNA 含量样本稀释 100 倍或 1000 倍。如果稀释了样本, 则用稀释液作为阴性对照。
- 2、若样本为干粉状态, 可以用稀释液将干粉样本进行溶解, 再进行下一步操作; 或先用适当的试剂将干粉样本溶解, 配成高浓度溶液, 再用稀释液稀释后, 进行下一步操作。一般可考虑将干粉样本稀释成 10mg/mL 或 100mg/mL。
- 3、待测样本为复杂背景基质的, 可根据需要进行加标回收实验, 以确定合适的样本稀释倍数。
- 4、pH 要求: 一般情况下生物制品纯化过程中间样本的 pH 均为中性, 若样本的 $\text{pH}<6$, 则会影响样本纯化处理效果。因此在样本处理前先测试一下样品 pH, 并可以用 2M 的氢氧化钠调整样本的 pH 至中性后 (pH6.0-8.0) 再进行纯化操作。
- 5、样本平行处理: 为了确保结果的准确性, 建议每个样品平行进行三次 DNA 提取处理和检测。

【检验方法】

A.手工操作流程:

- 1、加样: 按顺序将 100 μL -400 μL 样本或处理后的样本液、内标 (如有, 参考扩增试剂盒说明书要求)、10 μL 蛋白酶 K、600 μL 裂解液、10 μL 磁珠 A (吸前混匀磁珠) 加入 1.5mL 的无核酸酶离心管中, 充分震荡混匀, 于 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 2min 后低速离心 2S;
- 2、将离心后的上述混合液磁吸 2min, 弃上清, 去磁;
- 3、添加 1mL 洗液, 充分震荡混匀, 低速离心 2S 后磁吸 2min, 弃上清, 去磁, 晾干 2min;
- 4、加 100 μL 洗脱液, 充分震荡混匀, 低速离心 2S 后于 80 $^{\circ}\text{C}$ 干式恒温器中解离 5min;
- 5、磁吸 1min 后, 取提取或纯化产物用于后续实验。

※磁吸时间与磁板的磁性强度有关, 出现磁珠残余严重的情况, 应适当增加磁吸时间; 上清应弃除完全; 低速离心转速建议不超过 3000rpm/min, 严禁高速离心。

B.自动化提取方法 (以适配宝泰仪 32 通道全自动核酸提取仪 BTE-32PH 为例) :

- 1、准备好与核酸提取设备配套的 96 孔深孔板和磁棒套;
- 2、分装试剂: 按下述步骤 3-7 将试剂分装至 96 孔深孔板对应孔中;
- 注: 不同设备, 加热模块所在位置可能会存在差异, 应根据实际进行调整分装试剂的位置。
- 3、在 96 孔深孔板的第 A2-H2、A8-H8 列孔位中, 分别按裂解液 600 μL /孔、内标 (如有, 参考扩增试剂盒说明书要求)、蛋白酶 K 10 μL /孔、磁珠 A 10 μL /孔、液体样本或处理后的样本液 100 μL /孔-400 μL /孔加入;
- 4、在 96 孔深孔板的第 A4-H4、A10-H10 列孔位中, 按 1000 μL /孔加入洗液;
- 5、在 96 孔深孔板的第 A6-H6、A12-H12 列孔位中, 按 100 μL /孔加入洗脱液;
- 6、将加好样本的 96 孔深孔板放至适用的核酸自动提取设备中;
- 7、取出磁棒套, 在核酸自动化提取设备合适的位置中插入磁棒套;
- 8、设置提取程序, 按以下程序运行:

步骤	项目	孔位	体积	混匀频率	混匀时间	静置时间	磁吸次数	晾干时间	裂解温度	洗脱温度
1	裂解	2	1000 μL	快	180s	0s	10	0s	40 $^{\circ}\text{C}$	0 $^{\circ}\text{C}$

2	洗涤	4	1000μL	快	60s	0s	10	120s	0℃	70℃
3	洗脱	6	100μL	快	180s	0s	3	0s	0℃	70℃
4	弃磁	4	1000μL	中	10s	0s	0	0s	0℃	0℃

※磁吸时间与磁棒的磁性强度有关，出现磁珠残余严重的情况，应适当增加磁吸时间

自动化提取程序结束后，将第 6 列、第 12 列孔位中的提取产物转移至 1.5mL 干净无核酸酶的离心管中，提取产物-20℃保存，若立即用于检测可于 2-8℃保存。

【检验方法的局限性】

样本量：提取样本量最大不超过 400μL。

【产品性能指标】

高效快速：用本产品载体提取的运行时间仅需 18min 左右。

【注意事项】

- 1、操作前仔细阅读使用说明书，应严格按照说明书进行试验操作。
- 2、避免在恶劣的环境（如含有 84 消毒液、次氯酸钠、酸碱或乙醛等高浓度腐蚀性气体及灰尘的环境）条件下进行试验，实验室消毒应在试验结束后进行。
- 3、产品提取的产物为核酸，包括 DNA 和 RNA，所有使用的器皿、移液枪等需为专用。离心管、枪头等一次性耗材需无 DNase/RNase；不同样本间微量移液器吸嘴不可混用，以免交叉污染。
- 4、本试剂盒组分内含有化学试剂及防腐剂等，具有一定的化学危害，不应接触皮肤或粘膜。如有任何试剂接触到皮肤或粘膜，需立即使用大量清水对该部位扩大清洗和消毒。所有样本及使用后的试剂盒应视为潜在的传染性物质，废弃处理时，按照当地政府和有关规定进行。样本的处理需要在超净工作台或者生物安全柜中进行。
- 5、试剂盒各组分请在外包装标示的有效期内使用。剩余试剂要及时密封（尤其是裂解液和洗液，密封不严会导致挥发），放置规定环境温度储存。
- 6、使用前，若试剂中存在结晶现象，可将试剂置于 37℃环境或分次溶解，待结晶完全溶解后取出使用。
- 7、试剂盒严禁冷冻，结冰会影响试剂性能，若试剂使用前发现结冰现象，建议更换使用。
- 8、本产品仅用于生物制品样本的前处理。

【免责声明】

本产品仅供研究用，本公司对此产品所承担的责任仅限于产品价值本身。

【参考文献】

1. Peter R Levi son, Stephen E Badger, Jon Dennis, et al. Recent developments of magnetic beads for use in nucleic acid purification[J].Chromatography A, 1998, 81:107.
2. Berensmeier S, Magnetic particles for the separation and purification of nucleic acids[J], Applied Microbiology and Biotechnology, December 2006, Volume 73, Issue3, 495–504.

【公司信息】

邮箱：marketing@biori.com.cn

网址：www.biori.com

