

磁珠法全血/唾液/口腔拭子基因组提取试剂盒

【产品名称】

商品名称：磁珠法全血/唾液/口腔拭子基因组提取试剂盒

【包装规格及适配仪器】

预分装：16T(适配 16通道全自动核酸提取仪)

预分装：96T(适配96通道全自动核酸提取仪)

非预分装：20T、100T、500T(手工提取和其他全自动核酸提取仪)

【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体外检测使用。产品组成中不含可与样本特异性结合的抗原、抗体、探针等成分。

【检验原理】

本试剂盒是基于生物纳米磁珠的核酸提取试剂盒，主要原理是利用功能性生物磁珠表面的功能基团，将核酸从样品裂解产物中富集至磁珠表面，再利用磁性分离装置对磁珠进行分离，从而快速分离纯化核酸。整个过程不需用到酚、氯仿等有机试剂，安全无毒，并且利用具有顺磁性的生物纳米磁珠，适合高通量自动化提取。

【主要组成成分】

货号	-16	-96	-20	-100	-500
规格	16 T 预分装	96 T 预分装	20 T 非预分装	100 T 非预分装	500 T 非预分装
裂解液	600 μ L/孔	65mL/96孔 板*1板	13 mL	65 mL	325 mL
洗涤液 I	800 μ L/孔*2 孔	96孔板*2板	36 mL	90 mL*2	450 mL*2
洗涤液 II	200 μ L/孔	96孔板*1板	5 mL	25 mL	125 mL
洗涤液III&磁 珠	800 μ L/孔	96孔板*1板	18 mL	90mL	450 mL
洗脱液	100 μ L/孔	96孔板*1板	4 mL	20 mL	60 mL
蛋白酶K	800 μ L	2.0 mL*2	800 μ L	2.0 mL*2	2.0mL*10
RNase A (10mg/mL) (选配)	480 μ L	1.2 mL*2	480 μ L	1.2 mL*2	1.2 mL*10
增强剂 (选配)	10mL/瓶	50mL/瓶	10mL/瓶	50mL/瓶	250mL/瓶

【储存条件及有效期】

室温(10-30 $^{\circ}$ C)保存，有效期12个月。

【样本要求及处理方法】

适用于全血、唾液和口腔拭子。

样本保存：1天以内提取需2-8 $^{\circ}$ C条件下贮存；1周以内提取需-20 $^{\circ}$ C条件下贮存；1周以上提取需在-80 $^{\circ}$ C条件下冻存，且避免反复冻融。

【自动提取（16通道设备以1和5通道加热为例）】

1、打开仪器电源，待仪器完成自检后，按对应的仪器型号设置参数。

表1. 16通道全自动核酸提取仪程序

步骤	一	二	三	四	五	六	七	八
工位	6	1	2	3	4	6	5	6
等待时间	0	0	0	0	0	0	120s	0

混合模式	中速	中速	中速	中速	中速	中速	中速	中速
混合时间	30s	600s	240s	240s	120s	120s	480s	30s
吸磁时间	30s	120s	30s	30s	30s	30s	120s	0
体积(μL)	800	800	800	800	200	800	100	800
温度	/	95℃	/	/	/	/	75℃	/

表2. 96通道全自动核酸提取仪程序

步骤	一	二	三	四	五	六	七	八
工位	5	1	2	3	4	5	6	5
等待时间	0	0	0	0	0	0	120s	0
混合模式	中速	中速	中速	中速	中速	中速	中速	中速
混合时间	30s	600s	240s	240s	120s	120s	480s	30s
吸磁时间	30s	120s	30s	30s	30s	30s	120s	0
体积(μL)	800	800	800	800	200	800	100	800
温度	/	95℃	/	/	/	/	75℃	/

2、(预分装试剂省略此步)非预分装试剂请预先将各组分(使用前务必充分摇匀)按照下表进行分装并做好标记。

组分	装量规格	96 T-工位	16 T-布板
裂解液	600 μL /孔	工位1	1/7列
洗涤液I	800 μL /孔	工位2	2/8列
洗涤液I	800 μL /孔	工位3	3/9列
洗涤液II	200 μL /孔	工位4	4/10列
洗涤液III&磁珠	800 μL /孔	工位5	6/12列
洗脱液	100 μL /孔	工位6	5/11列

全血、唾液、口腔拭子样本

1、将样本加入裂解液对应的样本孔中：

- (1) 血液样本：将新鲜抗凝血上下颠倒混匀，常规样本建议取100-300 μL 进行提取；老鼠血液建议取50-100 μL 进行提取；骨髓血建议取100-200 μL 进行提取。
- (2) 血卡样本：取1-5片，直径为6mm的血卡样本，加入300 μL 的组织前处理液（BC-6），再加40 μL 蛋白酶K，65℃孵育45 min，孵育结束后，12000 rpm离心2 min，转移上清进行实验。
- (3) 唾液/血细胞样本：将样本上下颠倒混匀，建议取100-300 μL 进行提取。
- (4) 口腔拭子：将保存于保护液中的口腔拭子充分振荡混匀，建议取300 μL 保护液进行提取；若为干拭子，将口腔干拭子转移到1.5 mL的离心管中，加入500 μL 的PBS或生理盐水，充分涡旋混匀，转移上清300 μL 进行实验。

2、向裂解液孔中加入40 μL 蛋白酶K(血卡样本除外)；对于老鼠血液样本，如需要去除RNA，还需在工位4中加入10 μL RNase A（10mg/mL）；对于骨髓血样本，如需得到更好的效果，需在在工位4中加入400 μL 增强剂，如需要去除RNA，还需要在工位4中加入20 μL RNase A（10mg/mL）。

3、根据装量说明及工位布板将不同组分置于仪器对应的工位处；

4、程序结束后，仪器会自动停止，洗脱液对应的深孔板内为提取的核酸样品，短时间储存可以放在2-8℃，长时间还需-20℃以下保存。

【手动版】

1. 取800 μL 洗涤液III&磁珠至1.5 mL离心管中(注意: 为了确保磁珠彻底重悬, 请充分振荡混匀后立即吸取), 置于磁力架上静置1 min后将全部上清吸出, 洗涤液III和磁珠保存待用。
2. 样本前处理:
不同样本处理方式见自动提取。
3. 将处理好的样本转移至步骤1中待用的磁珠中, 再加入600 μL 的裂解液, 添加40 μL 蛋白酶K(20 mg/ mL), 振荡混匀, 置于55 $^{\circ}\text{C}$ 裂解10 min (期间颠倒混匀数次)。
4. 将离心管置于磁力架上, 静置1 min, 期间反复颠倒磁力架5-6次, 使可能残存在管盖上的磁珠被磁力架吸附住, 小心用移液器吸去管盖和管中的液体。
5. 取下离心管, 加入800 μL 洗涤液 I, 将离心管振荡混匀4 min后再置于磁力架上, 静置1 min, 期间反复颠倒磁力架5-6次, 磁珠完全吸附后, 小心用移液器吸去管盖和管中液体。
6. 重复步骤5一次。
7. 加入200 μL 洗涤液 II, 如需要去除RNA, 部分样本还需要加入适量的 RNase A (具体加入量参照自动提取样本处理), 将离心管涡旋振荡混匀2 minb后, 再置于磁力架上, 静置1 min, 期间反复颠倒磁力架5-6次, 磁珠完全吸附后, 小心用移液器吸去管盖和管中液体。
8. 加入800 μL 步骤1中待用的洗涤液III将离心管振荡混匀2 min后, 再置于磁力架上, 静置1 min, 期间反复颠倒磁力架5-6次, 磁珠完全吸附后, 小心用移液器吸去管盖和管中液体。
9. 打开管盖, 室温干燥2 min至乙醇挥发完全(乙醇残留和过分子干燥均会影响下一步核酸洗脱效率)。
10. 取下离心管, 加入100 μL 洗脱液, 振荡混匀使磁珠完全浸没在洗脱液中, 再置于65 $^{\circ}\text{C}$ 孵育10 min, 期间振荡混匀3次。
11. 孵育结束后, 将离心管置于磁力架上, 静置1 min,待磁珠完全吸附后, 小心用移液器将液体转移至新的干净的离心管中(切勿将磁珠吸出), 所得溶液即为核酸样品。短时间储存可以放在2-8 $^{\circ}\text{C}$, 长时间还需-20 $^{\circ}\text{C}$ 以下保存。

【注意事项】

1. 操作注意安全防护: 样本提取应在规定的实验场所进行, 穿戴防护衣物、一次性手套和口罩; 有直接接触过样本的物品应进行消毒后丢弃或再次使用。
2. 实验前应对自动核酸提取仪进行紫外线消毒, 并定期清理实验台和样本提取专用移液器。
3. 接触试剂的材料均要求干燥、洁净, 以防止污染。
4. 装有磁珠的深孔板或试剂瓶使用前一定要充分摇匀。
5. 血液样本提取, 需要将血液恢复至室温后进行试验。
6. 对于组织样本如果加入RNase A混合2min还有RNA残留可以将混合时间延长至10min。
7. 裂解液、洗涤液 I 如果有沉淀, 可在室温中重新溶解, 摇匀后使用。

数据

1 新鲜血液（人）样本间的竞品对比

选取 22 份新鲜血液样本，使用本试剂盒与 QXX 和 ZXX 的提取试剂盒进行对比测试（表 1、图 1），结果显示本试剂盒提取效果优于 QXX 和 ZXX。

表 1 不同竞品提取血液 DNA 的提取纯度和浓度整理总结

QXX						ZXX					本试剂盒				
样本	A260/A280	A260/A230	浓度(ng/ul)	Qubit	Q/N	A260/A280	A260/A230	浓度(ng/ul)	Qubit	Q/N	A260/A280	A260/A230	浓度(ng/ul)	Qubit	Q/N
1	1.73	0.56	43.36	22.00	50.74%	1.83	2.01	56.42	33.40	59.20%	1.83	1.80	96.01	57.00	59.37%
2	1.73	0.79	33.34	17.00	51.00%	1.82	2.39	27.69	18.60	67.16%	1.83	1.86	58.76	47.80	81.34%
3	1.76	0.85	24.72	15.20	61.50%	1.84	2.33	26.43	19.10	72.26%	1.82	1.79	51.12	34.30	67.10%
4	1.76	0.97	28.90	21.50	74.40%	1.85	2.50	28.18	18.40	65.31%	1.83	1.87	73.86	57.00	77.17%
5	1.84	1.94	22.77	11.10	48.75%	1.85	2.12	13.79	9.81	71.12%	1.82	1.79	34.77	33.10	95.21%
6	1.81	1.13	19.73	9.34	47.35%	1.89	2.51	16.91	10.40	61.49%	1.84	1.84	28.39	22.00	77.50%
7	1.69	0.62	32.81	14.30	43.59%	1.85	2.16	43.12	31.20	72.36%	1.83	1.83	81.54	58.00	71.14%
8	1.81	1.12	20.13	10.70	53.16%	1.86	2.30	31.55	21.90	69.41%	1.83	1.82	81.81	59.00	72.12%
9	1.77	1.03	28.34	16.00	56.46%	1.86	2.43	28.21	19.00	67.35%	1.86	1.85	73.62	69.20	93.99%
10	1.74	0.96	24.55	15.70	63.96%	1.90	2.44	18.28	11.40	62.37%	1.84	1.93	68.03	63.60	93.49%
11	1.74	0.83	38.13	17.40	45.64%	1.90	2.47	18.71	13.00	69.47%	1.84	1.85	64.60	44.10	68.27%
12	1.85	1.49	61.45	27.30	44.42%	1.87	2.47	26.63	17.90	67.22%	1.82	1.81	119.39	52.00	43.56%
13	1.85	1.58	39.65	21.70	54.73%	1.92	2.24	10.75	5.28	49.10%	1.87	1.89	32.68	23.20	71.00%
14	1.87	1.94	36.98	21.00	56.78%	1.96	2.17	9.59	4.96	51.71%	1.84	1.91	54.98	34.40	62.56%

15	1.88	2.08	38.10	23.60	61.94%	1.91	2.05	14.14	9.09	64.27%	1.81	1.85	60.31	45.50	75.45%
16	1.85	1.51	41.23	23.00	55.78%	1.84	2.16	57.62	32.40	56.23%	1.83	1.80	84.17	57.00	67.72%
17	1.77	1.00	28.77	17.60	61.17%	1.82	2.04	42.62	25.90	60.77%	1.82	1.82	93.28	58.00	62.18%
18	1.76	0.81	43.41	24.10	55.51%	1.82	2.13	33.22	21.40	64.42%	1.84	1.78	85.50	59.00	69.01%
19	1.90	1.81	37.67	25.30	67.16%	1.83	2.41	27.09	15.90	58.69%	1.84	1.76	88.10	59.00	66.97%
20	1.70	0.67	34.17	16.60	48.59%	1.84	2.33	22.84	14.70	64.36%	1.86	1.84	60.51	52.00	85.93%
21	1.81	1.28	30.42	27.50	90.41%	1.86	2.31	24.38	13.80	56.60%	1.85	1.86	71.74	60.00	83.64%
22	1.76	0.80	35.51	31.30	88.14%	1.88	2.27	15.69	8.39	53.49%	1.84	1.86	97.35	57.00	58.55%

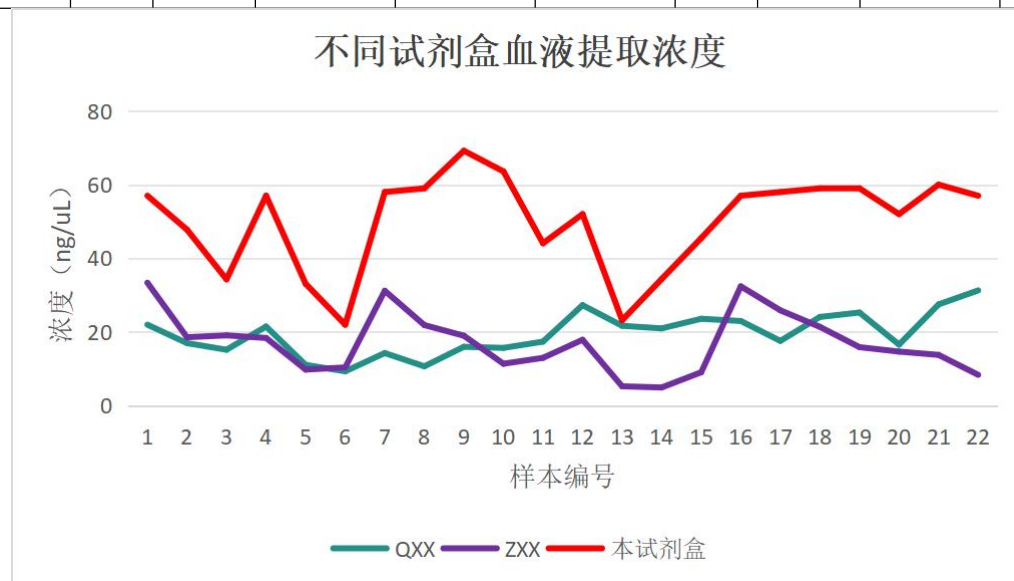


图1.不同试剂盒提取浓度对比

2.小鼠血样本间的竞品对比

选取 4 份新鲜血液样本，使用本试剂盒与 QXX 的提取试剂盒进行对比测试（表 2、图 2、图 3），结果显示本试剂盒提取效果优于 QXX。

表 2 竞品提取小鼠血的提取纯度和浓度整理总结

厂家	样本量	编号	A260/A280	A260/A230	核酸	Qubit	Q/N
本试剂盒	100ul	1	1.79	1.71	33.64	28.10	83.53%
		2	1.80	1.96	68.12	41.70	61.22%
		3	1.75	1.87	50.03	37.90	75.76%
		4	1.73	1.80	40.08	25.50	63.62%
QXX		1	2.10	0.58	34.52	16.10	46.64%
		2	2.19	0.57	31.52	14.00	44.42%
		3	2.12	0.67	38.14	16.70	43.79%
		4	2.13	0.83	14.50	4.64	32.00%

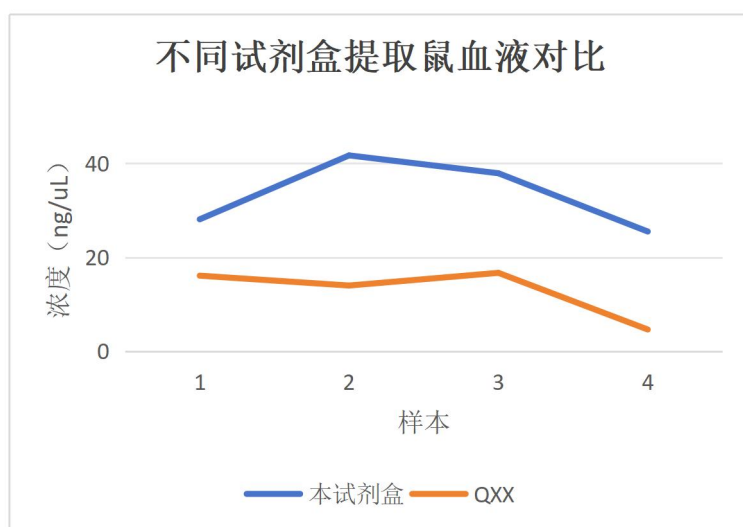


图2.不同试剂盒提取浓度对比

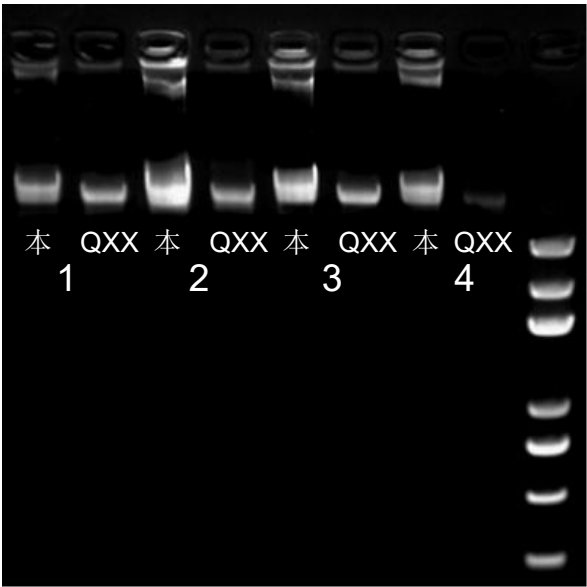


图3.不同试剂盒提取浓度琼脂糖电泳

3 口腔干拭子样本间的竞品对比

选取 8 份新鲜血液样本，使用本试剂盒与 QXX 的提取试剂盒进行对比测试（表 3），结果显示本试剂盒提取效果优于 QXX。

表 3 竞品提取口腔干拭子的提取纯度和浓度整理总结

厂家	编号	Qubit	厂家	编号	Qubit
本试剂盒	1	10.20	QXX	1	4.11
	2	18.50		2	7.77
	3	37.5		3	10.70
	4	7.90		4	4.24
	5	10.10		5	9.40
	6	14.20		6	4.20
	7	12.00		7	12.00
	8	16.40		8	7.13

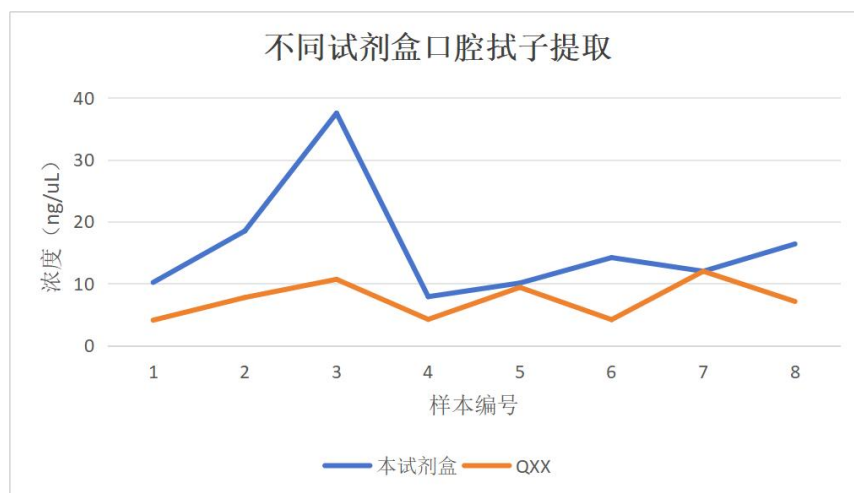


图4.不同试剂盒提取浓度对比