

【产品概述】

试剂盒采用博岳自产超顺磁性纳米磁珠结合精心配制的裂解缓冲系统，可以快速高效地从 0.5 ~ 5 mL 血浆、血清、胸水、腹水、脑脊液、尿液等无细胞体液中提取高纯度游离 DNA。试剂盒兼容常规手工提取和高通量自动化提取方案，提取过程约 45 min。提取产物可直接用于 PCR 扩增或 NGS 测序等下游应用。

【产品组分】

试剂盒主要由裂解液、洗涤液 I、洗涤液 II、洗脱液、磁珠和蛋白酶 K 组成。

组分	M1CF01-01 (50 人份/盒) *	M1CF01-02 (200 人份/盒) *
裂解液	150 mL	2 × 300 mL
洗涤液 I**	20 mL	80 mL
洗涤液 II***	16 mL	64 mL
洗脱液	5 mL	20 mL
磁珠	2 mL	8 mL
蛋白酶 K	5 mL	20 mL

* 提取次数按每次处理 2mL 样本进行计算。当提取其他体积样本时，反应次数会相应发生变化。

**洗涤液 I: 首次使用前在瓶中加入 20 mL (50 人份/盒) 或 80 mL (200 人份/盒) 无水乙醇。

***洗涤液 II: 首次使用前在瓶中加入 64 mL (50 人份/盒) 或 256 mL (200 人份/盒) 无水乙醇。

【储存和运输】

试剂盒常温运输，室温 (15-25°C) 保存。产品有效期 1 年。

长期保存时，建议将蛋白酶 K 及磁珠悬液保存于 2-8°C 以最大限度保证产品性能。

【样本要求】

参照国家标准或行业标准中的推荐方法进行血液、胸水、腹水、脑脊液、尿液等体液样本的采集、保存及运输。

样本处理：将抗凝血等体液样本 4°C，2000×g 离心 10 分钟，吸取上清；而后将获得的上清再次 4°C，16000×g 离心 10 分钟，吸取上清用于游离 DNA 提取或置于 -20°C/-80°C 保存备用。



【注意事项】

- 实验开始前请仔细阅读本说明书，并准备好无水乙醇、磁力架、水浴锅或金属浴、涡旋仪、以及无核酶离心管等必需的试剂、设备或耗材。
- 所有临床样本均应视为具有潜在感染性。使用本试剂盒进行核酸提取时，应根据样本中潜在病原微生物的种类及其危害程度选择具有相应生物安全等级（如 BSL-2 或更高）的实验环境进行操作。
- 实验操作时应穿戴防护服、实验服、手套、护目镜等合适的防护装备。
- 裂解液遇低温可能形成沉淀。如遇沉淀，请于 37°C 加热至沉淀完全溶解后使用，不影响产品性能。
- 洗涤液 I 在首次使用前需加入指定体积的无水乙醇（乙醇终浓度 50%），充分混匀并在瓶上做好标记。
- 洗涤液 II 在首次使用前需加入指定体积的无水乙醇（乙醇终浓度 80%），充分混匀并在瓶上做好标记。
- 磁珠悬液在静置后会沉降，使用前应充分涡旋或震荡混匀使磁珠均匀重悬。
- 所有试剂应在规定的环境条件下储存，并在有效期内使用。不恰当的保存条件、操作方式或参数设置均可能导致产品性能下降。
- 试剂盒中的裂解液具有弱腐蚀性，如果不慎接触皮肤，请立即使用大量清水冲洗。如清洗后仍觉不适，应及时寻求医生帮助。
- 本试剂盒各组分均经过特别配制，不同批号试剂盒组分不可相互替换使用。
- 所有试剂、耗材均为一次性使用。实验后的废弃离心管、吸头、试剂盒、磁棒套等均需进行无害化处理。

【试剂用量】

手工提取时，处理不同体积样本的推荐试剂用量如下：

样本体积	1 mL	2 mL	5 mL
裂解液	1.5 mL	3 mL	7.5 mL
磁珠	20 μ L	40 μ L	100 μ L
蛋白酶 K	50 μ L	100 μ L	250 μ L
洗涤液 I（已加入无水乙醇）	400 μ L	800 μ L	2 mL
洗涤液 II（已加入无水乙醇）	400 μ L	800 μ L	2 mL
洗脱液	30 μ L	50 μ L	100 μ L

自动化提取时，需根据提取仪所用耗材的最大样品处理量进行相应调整。

2

Hangzhou BioEast Biotech. Co., Ltd.

Room 701, Building 3#, Hexiang Technology Center, Hangzhou Biopharma Town, Hangzhou, China

Tel: 0571-86963020

Web: www.bioeast.com



【实验操作】

一、手工提取

以下以手工提取 **2 mL** 血浆游离 DNA 为例进行说明。处理其他体积无细胞体液样本操作方式基本相同，试剂用量参考上表。

实验前准备好移液器、水浴锅或金属浴、15 mL/2 mL 磁力架、涡旋混匀设备等，并自备 15mL 和 1.5 mL 无菌无核酶离心管和无核酶移液器吸头等。

1. 在新的 15 mL 无菌无核酶离心管中依次加入 **2 mL 血浆**、**100 μ L 蛋白酶 K** 和 **3 mL 裂解液**，涡旋混匀后 **60°C** 孵育 20 min，期间每 5 min 涡旋混匀一次。
2. 向离心管中加入 **40 μ L** 充分重悬的**磁珠**，涡旋混匀后室温孵育 10 min，期间涡旋混匀数次。
3. 将离心管置于磁力架上，待磁珠完全吸附溶液澄清后，小心吸弃所有液体。
4. 从磁力架上取出离心管，加入 **800 μ L 洗涤液 I**（确保已按要求加入指定体积的无水乙醇），涡旋混匀 1 min，使磁珠充分重悬，转移磁珠悬液至新的 1.5 mL 离心管中。
5. 将离心管置于磁力架上，待磁珠完全吸附溶液澄清后，小心吸弃所有液体。
6. 从磁力架上取出离心管，加入 **800 μ L 洗涤液 II**（确保已按要求加入指定体积的无水乙醇），涡旋混匀 1 min，将离心管置于磁力架上，待磁珠完全吸附溶液澄清后，小心吸弃所有液体。
7. 重复上一步，再次洗涤磁珠。
8. 保持离心管在磁力架上，敞开管口，在空气中晾干磁珠 5~10 min。晾干过程中可以使用移液器吸弃管中残留的液体。注意：管中液体应尽量挥发干净，否则可能会影响核酸纯度；同时应确保磁珠不能过分干燥，否则可能会影响核酸得率。
9. 从磁力架上取出离心管，加入 **50~100 μ L** **65°C** 预热的**洗脱液**，涡旋混匀或使用移液器吹打重悬磁珠，**65°C** 孵育 5 min，期间涡旋混匀数次。
10. 再次将离心管置于磁力架上，待磁珠完全吸附，溶液澄清，小心转移核酸溶液至新的无核酶离心管中。所得核酸样本可直接用于下游检测反应，或置于 **-20°C** 冰箱保存备用。

二、自动化提取

自动化提取方案以使用奥盛 Auto-Pure 10B 全自动核酸提取仪处理 **2 mL 血浆** 为例进行描述。需自备核酸提取仪、提取仪专用试剂盒及磁棒套等。其他体积无细胞体液样本的游离 DNA 提取方案、适用机型、操作步骤、程序设置等可以参考以下内容或咨询杭州博岳技术支持。



1. 按下表在 Auto-Pure 10B 全自动核酸提取仪专用试剂盒的相应孔位中依次加入样本及相应试剂。

孔位	1	2	3	4	5	6	7
样本	2 mL 血浆		800 μ L				
/	100 μ L 蛋白酶 K	800 μ L	洗涤液 II*	800 μ L	/	/	60 μ L
试剂	3 mL 裂解液	洗涤液 I*	40 μ L 磁珠	洗涤液 II*			洗脱液

* 确保已经按要求在洗涤液 I 和洗涤液 II 瓶中加入指定体积的无水乙醇。

2. 按下表参数在全自动核酸提取仪上设定提取程序。

#	名称	孔位	容积	混合 时间	混合 速度	混合 幅度	混合 位置	温度	段数	液面 吸磁 时间	吸磁 速度	循环 次数	第一段 吸磁 时间	晾干 等待	吸磁 位置
1	Lysis	1	5000	15	6	90	0	65	0	0	0.5	1	/	0	0
2	Beads	3	850	0.2	8	90	0	OFF	1	0	0.5	1	10	0	0
3	Bind	1	5000	12	6	90	0	OFF	1	0	1	2	10	0	0
4	Wash1	2	850	1	8	90	0	OFF	1	0	0.5	1	10	0	0
5	Wash2	3	850	1	8	90	0	OFF	1	0	0.5	1	10	0	0
6	Wash3	4	850	1	8	90	0	OFF	1	0	0.5	1	10	3	0
7	Elute	7	60	5	8	90	0	65	1	0	0.5	1	20	0	0
8	Drop	4	850	0.2	8	90	0	OFF	0	0	0.5	1	/	0	0

其他设置：1) 升温动作同步，程序提前 1 步洗脱孔开始加热；2) 降温动作同步；

3. 将已加入待提取样本和试剂的试剂盒放入提取仪中，并将专用磁棒套插入提取仪磁棒套插槽。

4. 关闭仓门，运行程序。

5. 待程序运行完成后，取下磁棒套，取出试剂盒并将第 7 孔的核酸溶液转移到新的无菌无核酶的离心管中。

所得核酸样本可直接用于下游检测反应，或置于-20°C冰箱保存备用。

6. 使用过的试剂盒与磁棒套应按生物废弃物处理的相关规定进行灭菌、处置。

