

游离 DNA 提取试剂盒 II

BeaverBeads™ Circulating DNA Kit II

产品简介

BeaverBeads™ Circulating DNA Kit II 采用超顺磁性微球和预制缓冲液，以快速高效的方法从 0.2~5 mL 血清、血浆、尿液等体液中提取游离 DNA。提取的产物质量稳定可靠，可用于 PCR 扩增、测序和检测等后续实验。本试剂盒适用于 Beaver Rosetta 24、KingFisher Flex24 自动核酸提取仪，也适用于手动提取。

产品组成

产品名称	BeaverBeads™ Circulating DNA Kit II
磁珠悬液 ①	保存于 2~8℃ (避免冷冻)
裂解液 ②	2~8℃ 储存, (可保存于室温, 若出现沉淀, 于 60℃ 加热溶解)
异丙醇 ③	需用户自备
洗涤液 I ④	2~8℃ 储存 (可保存于室温)
洗涤液 II ⑤	首次使用前按标签要求加入指定量的 80% 乙醇, 2~8℃ 储存 (可保存于室温)
洗脱液 ⑥	2~8℃ 储存 (可保存于室温)
蛋白酶 K ⑦	2~8℃ 储存 (-20℃ 长期保存)
溶液 A ⑧	2~8℃ 储存, 用于溶解蛋白酶 K 干粉 (可保存于室温)
异丙醇	分析纯, 需用户自备
80% 乙醇	需用户自备
保质期	2 年

样本处理

血浆样本: 取含有抗凝剂的采血管中的血液放入冷冻离心机内设置 4℃, 3000rpm, 离心 10min。血液分层为 3 层, 使用移液枪缓慢吸取上层上清即为血浆, 吸取时枪头尽量远离中间的细胞层, 防止吸入中间层的细胞。

血清样本: 离体的血液室温 30min 凝固之后, 放入冷冻离心机内设置 4℃, 3000rpm, 离心 10min。使用移液枪缓慢吸取上清即为血清。

尿液样本 (游离 DNA): 取尿液样本放入冷冻离心机内设置 4℃, 4000rpm, 离心 5-10min。使用移液枪缓慢吸取上层尿液即为无细胞的尿液。

尿液样本 (含基因组 DNA): 无需离心, 可直接提取尿液中全部 DNA。

操作流程

首次使用前:

- 在蛋白酶 K 干粉 (⑦) 中加入指定量 (见管身标签) 的溶液 A (⑧), 并于“□”内打上“√”, 混匀后保存于 2~8℃, 或分装后保存于 -20℃。
- 在洗涤液 II (⑤) 中加入指定量 (见管身标签) 的 80% 乙醇, 并于“□”内打上“√”, 混匀。

1. 自动化操作流程 (以 2 mL 样本反应体系为例)

准备物品:

- 核酸提取设备: BeaverDevice™ Rosetta24 大体积样本纯化仪
- 磁棒套 1 个, 24 孔深孔板 6 个 (Cat # 43019、43020)
- 单通道移液器: 200μL、1000 μL、5mL
- 裂解液 ② 提前加热溶解
- 异丙醇

操作步骤:

(1) 板位与试剂:

板位 1: 空深孔板+磁棒套 (Load 步骤)

板位 2: 每孔 100μL 蛋白酶 K 溶液+2mL 样本+2mL 裂解液* (②)+2mL 异丙醇 (③)

***注: 裂解液若出现沉淀, 于 60℃ 加热完全溶解。**

板位 3: 每孔 400μL 磁珠悬液 (①)

板位 4: 每孔 3mL 洗涤液 I (④)

板位 5: 每孔 3mL 洗涤液 II (⑤)

板位 8: 每孔 100~150μL 洗脱液 (⑥) **注意: 洗脱液加在深孔板中间凹陷位置, 请勿加在两侧位置。**

(2) 检查磁棒套: 如有高低不平或歪斜, 把磁棒套放入深孔板内, 在磁棒套板的每个孔上方轻轻均匀按压使磁棒套复位。

(3) 将每个深孔板加入对应试剂并放入机器内对应的板位, 确认深孔板完全卡入槽内。

(4) 运行机器中预设好的相应程序。

(5) 程序运行结束后, 立即取出板位 8 中的深孔板。转移各个孔内上清液至相应的 1.5 mL 离心管中, 此即为纯化得到的游离 DNA, 可保存于 -20℃。

注: 本产品的洗脱体积可低至 50μL, 但需注意洗脱效率与洗脱液体积有关, 洗脱液体积越大, 洗脱的核酸总量越多, 但浓度越低。

表 1: 不同样本量对应使用的深孔板内试剂每孔的加入量

试剂	样本体积			
	1mL	2 mL	3 mL	4 mL
蛋白酶 K 溶液	50μL	100μL	150μL	200μL
样本	1mL	2mL	3mL	4mL
裂解液 ②	1mL	2mL	3mL	2.3mL
异丙醇 ③	1mL	2 mL	3mL	3mL
磁珠悬液 ①	200μL	400μL	600μL	800μL
洗涤液 I ④	3 mL	3 mL	3mL	3 mL
洗涤液 II ⑤	3 mL	3 mL	3mL	3 mL
洗脱液 ⑥	100~150μL	100~150μL	100~150μL	100~150μL

2. 手动操作流程 (以 1 mL 样本反应体系为例)

准备物品:

- 1.5 mL 离心管、15 mL 离心管: 1个/样品
- 单通道移液器: 200 μ L、1000 μ L
- 漩涡振荡器
- 恒温金属浴 (Dry Bath Incubator, Cat # 2016C) (或水浴锅): 50-60 $^{\circ}$ C
- 磁性分离器: 可选用海狸磁性分离器, 货号: 60201
- 裂解液②提前加热溶解
- 异丙醇

操作步骤:

1. 裂解: 取一个新的 15 mL 离心管, 加入 50 μ L 蛋白酶 K (⑦), 再依次加入 1 mL 样本、充分溶解后的 1 mL 裂解液* (②) 和 1 mL 异丙醇 (③), 最大转速漩涡振荡混合均匀后, 将离心管置于 37 $^{\circ}$ C 加热 10 min (每隔 5 min 漩涡震荡 10 s)。

***注:** 裂解液若出现沉淀, 于 60 $^{\circ}$ C 加热完全溶解。

2. 结合: 向上述离心管中加入 200 μ L 磁珠悬液 (①), 最大转速漩涡震荡混匀 30 s 后, 将离心管置于恒温金属浴 (或水浴锅) 50 $^{\circ}$ C 加热 10min, 然后将离心管置于磁性分离器上至溶液澄清, 用移液器吸去上清液, 并取下离心管。

3. 洗涤:

(1) 加入 3 mL 洗涤液 I (④), 漩涡震荡 1 min, 使磁珠充分重悬, 将离心管置于磁性分离器上直至溶液澄清, 用移液器移去上清液并取下离心管。

(2) 加入 3 mL 洗涤液 II (⑤), 漩涡震荡 1 min, 使磁珠充分重悬, 将离心管置于磁性分离器上直至溶液澄清, 用移液器移去上清液并取下离心管。

(3) 加入 800 μ L 洗涤液 II (⑤), 涡旋振荡使磁珠重悬, 转移磁珠悬液至新的 1.5 mL 离心管中, 并于室温下静置 1 min, 然后将离心管置于磁性分离器上直至溶液澄清, 用移液器移去管盖及管底溶液。

注: 步骤 (3) 可用小量程的移液器尽量除尽洗涤液。

4. 干燥: 保持离心管于磁性分离器上, 于室温下静置 10 min 后, 取下离心管。

注: 干燥过程中若发现反应管中有液体残留时, 可用小量程移液器吸弃液体。

5. 洗脱: 加入 50 μ L 50 $^{\circ}$ C 预热洗脱液 (⑥), 漩涡震荡 1 min 或用移液器缓慢吹打磁珠 50 次, 使磁珠充分重悬, 于 50 $^{\circ}$ C 加热 5 min 后, 将离心管置于磁性分离器上直至溶液澄清, 转移上清液至新的 1.5 mL 离心管中, 此即为纯化得到的游离 DNA, 可保存于 -20 $^{\circ}$ C。

注: 本产品的洗脱体积可低至 20 μ L, 但需注意洗脱效率与洗脱液体积有关, 洗脱液体积越大, 洗脱的核酸总量越多, 但浓度越低。

表 2: 不同样本量对应使用的反应管规格和试剂加入量

反应管/试剂 \ 样本体积	600 μ L	1 mL	2 mL	3 mL	4 mL
反应管规格	15mL	15mL	15mL	15mL	15mL/50 mL
蛋白酶 K 溶液	30 μ L	50 μ L	100 μ L	150 μ L	200 μ L

样本	600 μ L	1mL	2mL	3mL	4mL
裂解液 ②	600 μ L	1mL	2mL	3mL	4mL
异丙醇 ③	600 μ L	1mL	2mL	3mL	4mL
磁珠悬液 ①	120 μ L	200 μ L	400 μ L	600 μ L	800 μ L
洗涤液 I ④	3mL	3mL	3mL	3mL	3mL
洗涤液 II ⑤	3mL	3mL	3mL	3mL	3mL
洗涤液 II ⑤	800 μ L	800 μ L	1mL	1mL	1mL
洗脱液 ⑥	50 μ L	50 μ L	50~150 μ L	50~150 μ L	50~150 μ L

注意事项

1. 操作之前, 请务必认真阅读本产品手册。
2. 提取效果与样本质量有关, 应避免对样本进行反复冻融。
3. 应避免对磁珠进行冷冻、离心等操作。
4. 磁珠取用前应充分重悬均匀。
5. 磁珠干燥前, 应用移液器吸尽洗涤液。
6. 应避免磁珠过度干燥, 否则会严重降低核酸洗脱效率。
7. 建议使用质量较好的离心管和移液器吸头, 避免因粘附磁珠而造成损失。

【制造商信息】

【备案人/生产企业】苏州海狸生物医学工程有限公司

【住所】苏州工业园区华云路 1 号东坊产业园 B 区 4 号楼 【邮编】215123

【联系方式】电话: 0512-85187639 传真: 0512-85187635

【医疗器械备案凭证编号】苏苏械备 20190083 号

【医疗器械生产备案凭证编号】苏苏食药监械生产备 20161010 号

【医疗器械产品技术要求编号】苏苏械备 20190083 号

【说明书编制日期】2020. 02. 10

有限使用商标许可

苏州海狸生物医学工程有限公司声明对其开发的或者与其他单位合作开发的所有内容和服务拥有或者与合作者共同拥有全部知识产权, 受有关商标权、专利、版权等知识产权法律的保护。本产品的购买者享有的权利仅限于对所购买数量的本产品进行内部研究使用, 并且该权利不可转让, 亦不可用于任何商业应用, 购买者无权对该产品或其任何一部分进行重新销售。如出于商业用途的使用 (包括但不限于代理销售), 则必须经过苏州海狸生物医学工程有限公司的书面许可, 并在使用时注明来源和知识产权、版权等系苏州海狸生物医学工程有限公司所有的标记。如需获得其它权限信息, 请联系 Beaver@beaverbio.com, 或者苏州海狸生物医学工程有限公司地址: 苏州工业园区华云路 1 号东坊产业园 B 区 4 号楼, 邮编 215000。

本产品由苏州海狸生物医学工程有限公司生产。

版权声明:

©2013 苏州海狸生物医学工程有限公司保留所有权利。本《用户手册》所呈现的任何内容, 无论商标、设计、文字、图像和任何其他信息, 未经特殊说明, 其著作权均归属苏州海狸生物医学工程有限公司所有。对于违反国家有关法律、法规, 不尊重本声明, 不经同意, 擅自使用本《用户手册》内容并不注明出处的行为, 本公司保留采取法律措施, 追究其责任的权力。

需要支持, 请访问: www.beaverbio.com/support 或电子邮件: Service@beaverbio.com