



Enriching Beads[®] 磁性硅颗粒用于核酸提取与纯化



使用指导

英芮诚生化科技

2018. 8.1



磁性硅颗粒用于核酸提取与纯化

超顺磁硅颗粒由磁性内核以及无定型的二氧化硅壳层组成，它可以在外磁场的作用下与溶液进行分离，在优化的结合液（如离液盐）体系中，它可以选择性地从复杂的样本中富集核酸，通过几步清洗，进而将核酸从磁性硅颗粒上洗脱下来，即可用于下游分子生物学应用。该技术作为硅膜柱的替代方案而开发，无需离心，可以允许高通量自动化的样本处理，与传统的技术相比，具有明显的优势。

基于磁珠的典型核酸提取流程如图1所示：

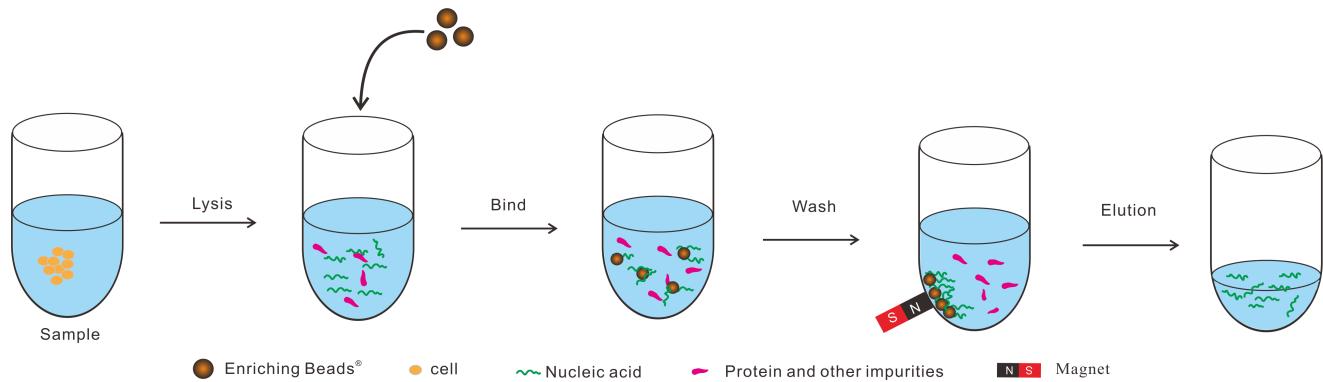


图1: 磁性硅颗粒用于核酸提取的实验流程

在核酸提取中应如何选择磁性硅颗粒？

基于磁珠开发的核酸应用日新月异，并在各种样本制备过程中需要磁珠的各种物理特性。磁珠在尺寸、性状、磁响应性、悬浮时间和有效表面基团各有不同，由于上述这些因素，选择合适的磁珠去开发相应的核酸纯化的方案是至关重要的。

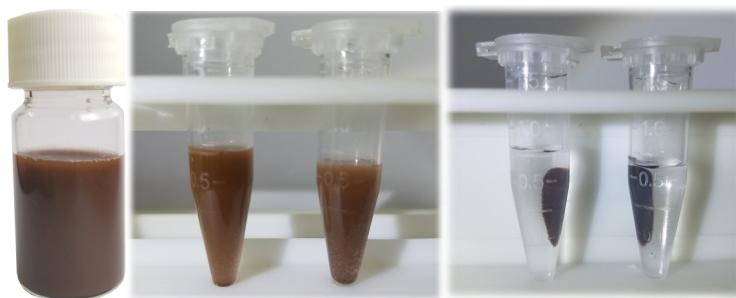


图2: 磁珠在溶液中被磁场吸附前后



宏观物理性能

选择磁珠时需考虑到的因素有：

- 所使用配套的混匀工具以及自动化设备的外磁场强度及梯度，对于沉降较快的磁珠需要更为有效的混匀工具；
- 对于磁含量较低且粒径较小的磁珠，需要一个更强的外磁场以获得较大的磁力来缩短其分离时间，同时避免或者减少磁珠残留现象；
- 对于粘稠的样本应选择粒径较大的磁珠，同时需要适当提高磁珠用量以提高结合效率。

Enriching Beads® 磁性硅颗粒包含4种基础款（表1）和2种特别款（表2）。

表1：4种基础款磁性硅颗粒的宏观物理性能

	MSi500-DNA-0501	MSi100-DNA-0507	MSi500-DNA-0511	MSi100-DNA-0517
磁分离速度	+++	++	++	+
悬浮时间	+	++	+	++
密度	++	+	++	+
颜色	黑色	棕色	棕色	棕黄色
适合体积规模	所有	所有	小体积	小体积

表2：2种特别款磁性硅颗粒的宏观物理性能

	Surface HP	EM001
磁分离速度	++++	+++
悬浮时间	+	+
密度	++	+
颜色	黑色	棕色
适合体积规模	所有	所有



微观性能

磁珠的微球性质（比表面积、磁学性质、表面基团）与核酸纯化的性能密切相关：较大尺寸或者较高磁含量的磁珠易获得较高的磁力，但磁珠尺寸越大，其沉降速率也越快；磁珠的比表面积越大往往对核酸的得率越高，但对于杂质的吸附会有所增加。

表3: 4基础款磁性硅颗粒的微观性能

	MSi500-DNA-0501	MSi100-DNA-0507	MSi500-DNA-0511	MSi100-DNA-0517
平均粒径	500nm	100nm	500nm	100nm
浓度	50mg/mL	50mg/mL	50mg/mL	50mg/mL
性状	球形	球形	球形	球形
磁性性质	超顺磁性	超顺磁性	超顺磁性	超顺磁性
饱和磁化强度	>70emu/g	>50emu/g	>62emu/g	>40emu/g
磁含量	>90%	>85%	>90%	>85%
比表面积	>10m ² /g	>20m ² /g	>10m ² /g	>20m ² /g
官能团密度	+++	+++	+	+
核酸结合量 (a)	~10.5 μg/mg	~12.5 μg/mg	~2.5 μg/mg	~2.0μg/mg

表4 2种特别款磁性硅颗粒的微观性能

	Surface HP	EM001
平均粒径	~10μm	500nm
浓度	100mg/mL	50mg/mL
性状	方片形	球形
磁性性质	超顺磁性	超顺磁性
饱和磁化强度	>32emu/g	>50emu/g
磁含量	~30%	~80%
比表面积	>0.5m ² /g	>10m ² /g
官能团密度	++++	+++
核酸结合量 (a)	~7.5 μg/mg	~8.5 μg/mg

a:上述的核酸结合量测定是基于英芮诚生化科技配套试剂，不同配方的结合缓冲液、清洗缓冲液、洗脱缓冲液极大影响核酸得量，此处仅作为参考值。



磁珠表面及形貌

磁珠表面的官能团影响着核酸的结合、清洗和洗脱，核酸与磁性硅颗粒的结合是通过离液盐（如胍盐）的沉淀或离子相互作用而实现。磁性硅颗粒的表面含有不同量数量以及类型的硅烷醇基团。不同类似的硅烷醇基团对核酸纯化（产率和纯度）有很大的影响。不同表面的磁性硅颗粒需要的离液盐浓度和异丙醇比例也有所变化。

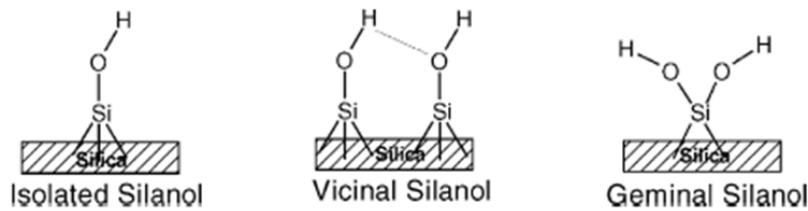


图3: 表面的3种硅烷醇类型

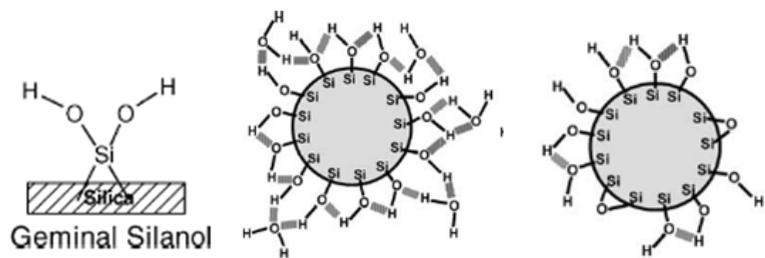


图4: 0501 和 0507 的表面(左);
0511 和 0517 的表面(右)

Enriching Beads® 4种基础款磁性硅颗粒的表面包含两种类型：MSi500-DNA-0501 和 MSi100-DNA-0507 具有较高密度的硅烷醇，MSi500-DNA-0511 和 MSi100-DNA-0517 具有较低密度的硅烷醇，较高密度的硅烷醇具有较高的核酸载量。

Enriching Beads® 4种基础款磁性硅颗粒都有相似的核壳结构，SEM显示粒径分布均匀，TEM显示磁性氧化铁的内核外层涂覆了一层二氧化硅。独特的制造工艺致使二氧化硅的包封是完整，铁泄露小于10ppm。磁珠本质上是“超顺磁”，当置于磁场中它们被很快吸引至磁铁上，但移除外磁场后不会保留磁性“记忆”，又可以重新分散于溶液中，该特性防止磁珠结块并且允许颗粒容易分散。

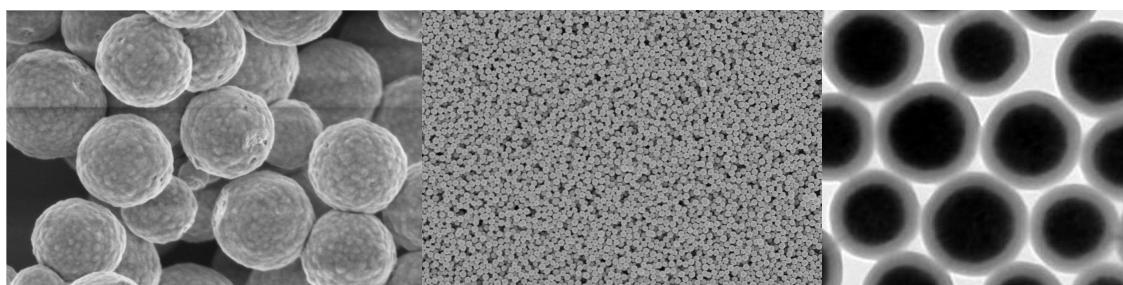
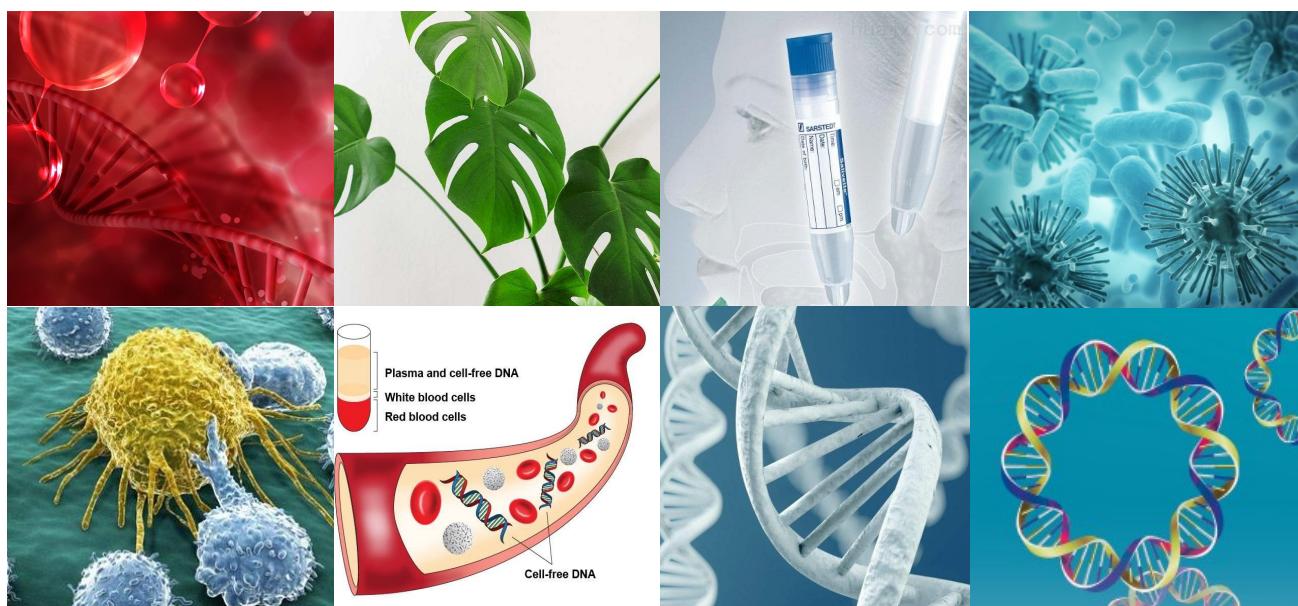


图5: 0501磁珠的SEM 和TEM



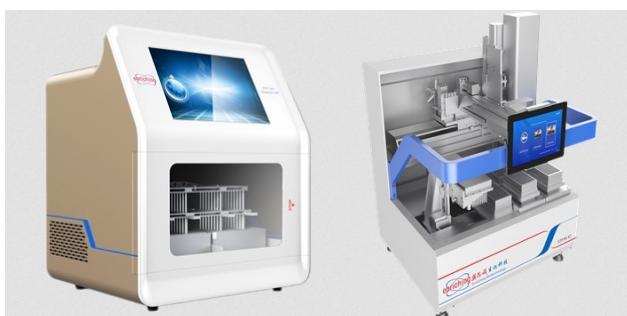
多种样本类型的DNA纯化应用

Enriching Beads® 磁性硅颗粒适用于多种样本（血液、植物、唾液、拭子、病毒、组织和细胞等）的DNA提取。英芮诚提供多款磁性硅颗粒，它们具有不同类型的宏观物理性质以及多种类型的硅表面，以帮助应对不同样本中DNA的提取与纯化，从质粒DNA至基因组DNA。它们需要配合优化的配方体系以获得最佳的核酸得率和纯度。



自动化应用

- 兼容不同的自动化处理系统（例如：KingFisher™, Beckman Biomek FX, Enriching ETP-300, Enriching ETP96-X2）
- 适合小型、中型和高通量自动化操作； Suit for small, medium, and high-throughput automation
- 适合不同样本处理体积





0501 应用于植物和唾液中的基因组DNA纯化

1mg 核酸提取磁珠0501 配套英芮诚提取试剂应用于多种植物样本的基因组DNA提取，每一种用液氮研磨的植物样本使用50~100mg。表5和图6显示了非多糖多酚类植物基因组DNA提取的得量与纯度，OD260/280 在 1.7~1.9之间。1.5mg 核酸提取磁珠0501 配套英芮诚提取试剂应用于200μL唾液基因组DNA提取，结果见图7和表6。

表5: 植物基因组DNA提取OD数据

样本	序号	260/280	260/230	得量(μg/μL)
番茄叶	1	1.77	1.78	21.55
	2	1.80	1.77	29.51
	3	1.75	1.65	23.51
大豆叶	4	1.70	1.83	69.61
	5	1.70	1.85	86.01
	6	1.74	2.04	73.54
绿萝卜	7	1.82	2.20	118.06
	8	1.82	2.30	113.08
	9	1.86	2.14	80.51
玉米叶	10	1.87	2.40	139.43
	11	1.90	2.09	157.62
	12	1.87	2.02	165.11
水稻叶	13	1.74	1.91	199.37
	14	1.76	1.98	225.73
	15	1.77	2.03	258.04

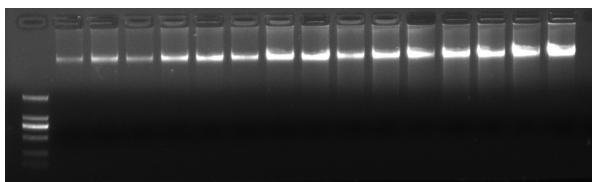


图6: 多种植物基因组DNA提取结果

表6: 唾液基因组DNA提取OD数据

样本	260/280	260/230	得量(μg/μL)
1	1.79	1.83	67.32
2	1.75	1.61	54.71
3	1.74	1.65	37.90
4	1.74	1.73	58.19
5	1.77	1.70	73.89
6	1.75	1.54	52.54
7	1.74	1.74	47.64
8	1.72	1.80	72.96
9	1.79	1.70	106.05
10	1.76	1.64	115.45
11	1.76	1.86	97.71
12	1.76	1.81	114.77
13	1.79	1.71	103.92
14	1.77	1.71	114.02
15	1.76	1.66	101.62
16	1.77	1.57	109.16

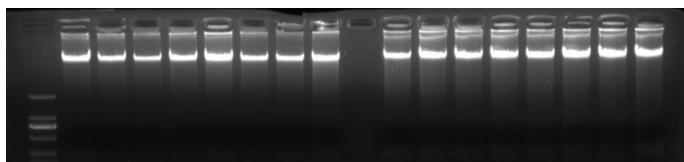


图7: 多种唾液样本DNA提取结果

总结

磁性硅颗粒在离液盐存在的条件下选择性地结合核酸，可以改变盐浓度和缓冲液组分（异丙醇含量、pH值等）调节结合的核酸类型以及片段大小。英芮诚已经优化的不同磁珠法核酸提取试剂盒可以显示不同类型样本中核酸的分离和纯化。



Surface HP 应用于血液基因组DNA纯化

Surface HP 是2018年初推出的新产品，对基质干扰较大的粘性血液样品中基因组DNA提取表现出优异的纯化效果，其独特的性能可以提取高质量的基因组DNA。在优化的缓冲系统（结合缓冲液、清洗缓冲液和洗脱缓冲液）的帮助下，提取理想产量的基因组DNA，从200 μ L新鲜或冷冻血液中提取高达5~15 μ g，OD_{260/280} 在1.7~1.9 之间，OD_{260/230} 大于2.0。

表7: 4种血样的基因组DNA的OD数据

Sample	260/280	260/230	Yield (μ g/ μ L)
Sample 1	1.74	2.10	66.54
	1.89	2.17	64.82
Sample 2	1.73	1.99	62.74
	1.72	2.09	58.14
Sample 3	1.77	2.20	58.93
	1.75	2.19	56.52
Sample 4	1.72	2.04	55.74
	1.74	2.03	55.48

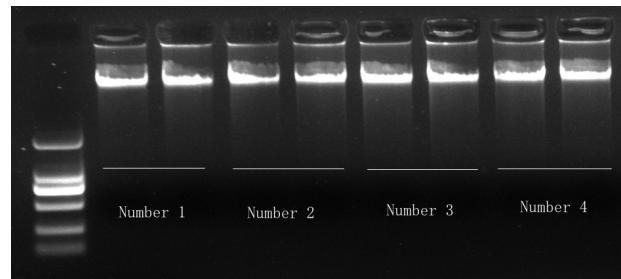


图8: 4种血样的基因组DNA胶图

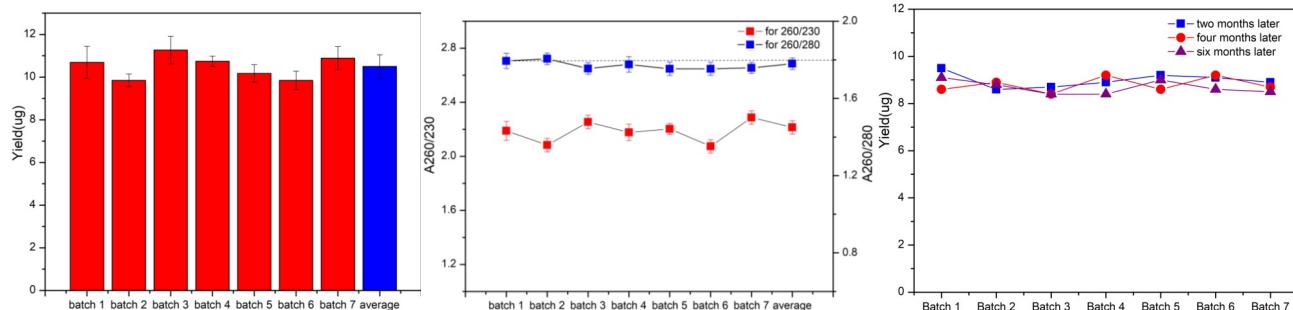


图9-11: 不同批次的Surface HP 的稳定性验证

结论

Surface HP的特性使其成为一种高性能的磁性固相载体，非常适合从自动化平台中的粘性样本中对基因组DNA进行纯化。它对短链的DNA具有较低的结合能力，不适合ctDNA、cfDNA、miRNA的分离。这些特征可以保证其对大规模样本的基因组DNA提取，且在商业化自动化平台中几乎不会出现磁珠残留。



EM001 应用于cfDNA纯化以及DNA甲基化

EM001 是2018年中期推出的新产品，该磁珠对短链DNA具有较强的富集能力，可以优先用于血浆中高效提取cfDNA和ctDNA。此外，它还可用于DNA甲基化的过程中。常规的磁性硅颗粒具有磁性核心以及二氧化硅涂层，但难以在高温下承受甲基化试剂（如亚硫酸氢盐）的侵蚀。EM001可在80~100°C下在甲基化试剂中稳定2小时以上，传统的DNA甲基化过程就因EM001可以显著缩短。典型的DNA甲基化的步骤是复杂的，首先从样品中将样本中的DNA进行结合、洗涤和洗脱，然后对洗脱下来的DNA进行甲基化处理，接着再次用磁珠进行结合、清洗和洗脱。而现在，在EM001的帮助下，DNA甲基化可以直接在磁珠的表面进行，无需洗脱，这不仅可以缩短整个流程的时间，节约磁珠和试剂的成本，而且实现DNA的提取及甲基化全程自动化操作。

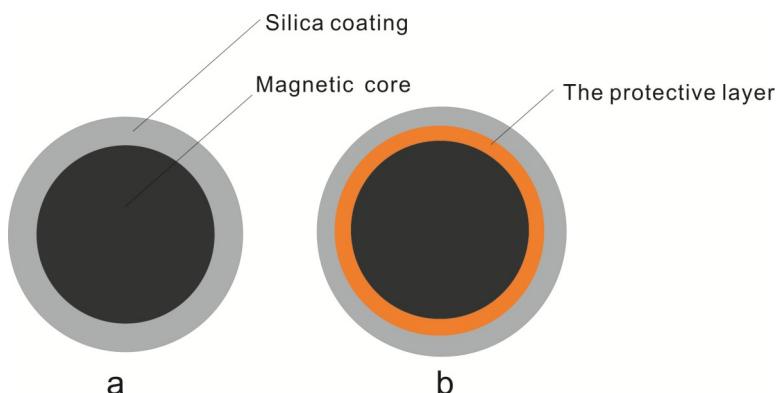


图12: 传统磁性硅颗粒的结构示意图(a);
EM001 的结构示意图(b)

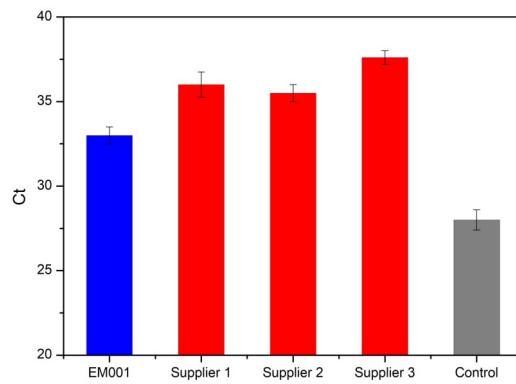


图13: 不同磁性硅颗粒对5mL血浆中cfDNA
的提取效果

总结

上述特性使EM001成为一种功能强大的磁性固相载体，非常适用于自动化平台中血浆中cfDNA的提取以及DNA的甲基化。EM001技术提供了一种新型的基质，其优化的结构可以有效结合核酸，使EM001系统成为自动化核酸提取的理想选择。



产能和效率

凭借现代化和灵活的生产设施，我们能够单批次生产1g~1kg Enriching Beads® 磁性硅颗粒用于核酸分离与纯化。生产过程不断发展、改进、扩大规模、控制和验证。它们在批次内和批次间显示了独特的再现水平。独有的专利技术和制造工艺可确保对磁珠参数和产品性能得到良好的控制，从而确保了磁珠的卓越性能。



不仅仅是磁珠供应商

基于自主研发并生产的系列磁性硅颗粒，英芮诚开发并推出了30多种核酸纯化试剂盒，它们适用于从各种样品中纯化DNA或RNA，如血液、血斑、唾液、拭子、植物组织、动物组织和FFPE等，性能已得到众多客户和数百万样品的验证。



关于我们

英芮诚生化科技成立于2013年，是一家以技术为导向的高新技术企业，业务主要集中在功能性生物磁性微纳米材料，核酸纯化试剂盒和自动化装置。我们在化学表面功能化和磁性微米纳米尺寸微球的生产方面有超过5年的经验，并且不断改进的质量管理是我们全面产品系列的基础。化学表面功能化和磁性聚合微球在我们的产品开发中占据中心位置。

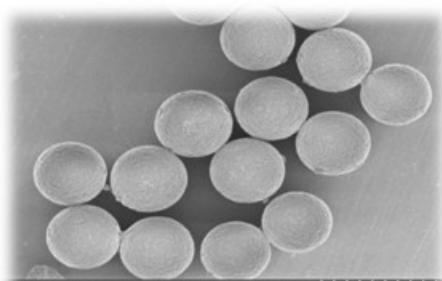


订购信息

产品	粒径	浓度	包装	货号
核酸提取磁珠0501 MSi500-DNA-0501	500nm	50mg/mL	20mL	D1-020
			200mL	D1-200
			2000mL	D1-02k
核酸提取磁珠0507 MSi100-DNA-0507	100nm	50mg/mL	20mL	D4-020
			200mL	D4-200
			2000mL	D4-02k
核酸提取磁珠0511 MSi500-DNA-0511	500nm	50mg/mL	20mL	D11-020
			200mL	D11-200
			2000mL	D11-02k
核酸提取磁珠0517 MSi100-DNA-0517	100nm	50mg/mL	20mL	D17-020
			200mL	D17-200
			2000mL	D17-02k
核酸提取磁珠Surface HP Surface HP	~10μm	100mg/mL	10mL	D20-010
			100mL	D20-100
			1000mL	D20-01K
核酸提取磁珠EM001 EM001	500nm	50mg/mL	20mL	D21-020
			200mL	D21-200
			2000mL	D21-02k

相关产品	规格	包装	货号
1um链霉亲和素磁珠	10mg/mL	2mL	ST01-002
		10mL	ST01-010
		100mL	ST01-100
32位核酸提取仪	32bit	1	ETP-300N
16孔磁力架	/	1	CQT-0001
多功能磁力架	/	1	CQT-0011

用于核酸分离和纯化的磁珠不仅可以是磁性硅颗粒，也可以是Enriching Beads® 其他系列品牌的磁珠，例如可以通过1um链霉亲和素磁珠可以结合生物素化寡核苷酸并用于靶向杂交捕获，或者用1um的羧基磁珠共价偶联探针、引物或者其他配体用于核酸的分离。



英芮诚生化科技

电话: 021-55809378

仅供研究使用，不可用于临床诊断 © 2018 英芮诚生化科技 版权所有，除非另有说明，否则所有商标均为英芮诚生化科技及其子公司所有。