

## 磁珠法病毒DNA提取试剂盒（常规版）

### MagBeads Virus DNA Extraction Kit (Regular Version)

【目录号】VDE-5005、VDE-5010、VDE-5030、VDE-5100

【运输条件】2~25℃；

【保存条件】磁珠悬浮液 4℃；蛋白酶K -20℃；其它组分室温；

【试剂盒组成】

Kit Component 试剂盒组成	VDE-5005 (50T)	VDE-5010 (100T)	VDE-5030 (300T)	VDE-5100 (1000T)
① VDE Buffer ML 裂解液	10mL	20mL	60mL	200mL
② Proteinase K Solution 蛋白酶K溶液	1mL	2mL	6mL	20mL
③ VDE Magnetic Beads 磁珠悬浮液	5mL	10mL	30mL	100mL
④ Wash Buffer 清洗液	30mL	60mL	180mL	600mL
⑥ Elute Buffer 洗脱液	10mL	20mL	60mL	200mL

【注意事项】

1. 蛋白酶K溶液长期不使用，请置于-20℃保存，融化后4℃保存，并尽快使用；
2. 磁珠悬浮液严禁反复冻融和离心，以免磁珠受到损害。使用前务必充分混匀；
3. 样本应避免反复冻融，否则DNA易发生降解；
4. 本操作指南经公司反复验证，使用前请仔细阅读，并且按照操作指南建议操作。

**【产品简介】**

本试剂盒适用于从血清、血浆或者其他体液样本中提取病毒DNA。在裂解液（VDE ML Buffer）环境中，病毒经裂解后释放的DNA特异性的结合于磁珠表面，经清洗和洗脱等步骤后，可得到高纯度的基因组DNA产物，完整性好，可直接应用于PCR、杂交等各种下游分子生物学实验。整个操作过程简单、快速且高效。本试剂盒可在EP管中手动法操作，亦可配合自动化核酸提取仪实现高通量操作。

**【试剂盒说明】**

样品类型	样本量	典型核酸得量	提取时间
血清、血浆等体液	200 $\mu$ L	1~100ng	<30min

*注：冷冻的样本需提前在4℃或室温下解冻。*

**【自备仪器和试剂】****仪器自动版**

涡旋混合仪、水浴锅（或金属浴）、英芮诚ETP-300型核酸提取仪、磁棒套、96孔方孔圆底板、EP管（2.0mL）、80%乙醇、异丙醇。

**手动版**

金属浴、涡旋混合仪、EP管（2.0mL）、EP管用磁力架、80%乙醇、异丙醇。

**【仪器自动版操作步骤】**

以英芮诚ETP-300型全自动核酸提取仪为例，同步可完成32份样本的提取工作。

**1. 96孔板加液**

参照下表用量向96孔板各孔位中分别加入相应试剂：

样品位	1、7	2、8	3、9	4、10	5、11	6、12
试剂	磁珠悬浮液 100 $\mu$ L	异丙醇 300 $\mu$ L	清洗液 600 $\mu$ L	80%乙醇 600 $\mu$ L	80%乙醇 600 $\mu$ L	洗脱液 50~100 $\mu$ L

*注：1) 每次吸取磁珠悬浮液前尽量摇晃均匀；2) 为提高效率建议使用排枪进行加液操作；3) 试剂加板完毕请尽快使用，防止醇挥发导致结果波动。*

**2. 样本裂解**

向2.0mL EP管中顺序加入200 $\mu$ L样本、20 $\mu$ L蛋白酶K溶液和200 $\mu$ L裂解液，盖好EP管盖，高速涡旋振荡30s，置于58℃环境中裂解10min。

*注：每增加100 $\mu$ L样品，需相应增加10 $\mu$ L蛋白酶K溶液用量。*

**3. 96孔板上样**

将裂解完毕EP管瞬离，然后将裂解液全部转移至96孔板2号（或8号）孔位中。

#### 4. 上机提取

将准备好的96孔板置于ETP-300型核酸提取仪中、插入磁棒套、打开仪器操作软件，运行“病毒DNA提取：外部裂解”程序。

“病毒 DNA 提取：外部裂解”程序各参数设置如下，如果原程序不慎丢失，可自行设定：

步骤编号	孔位	运行类型	振荡时间(秒)	分离时间(秒)	挥发时间(秒)	振荡幅度	振荡强度	一组温度(°C)	二组温度(°C)	三组温度(°C)	四组温度(°C)
1	1	磁珠转移	1	5	0	2	弱	0	0	0	0
2	2	DNA 结合	300	5	0	4	中	0	0	0	0
3	3	清洗 1	120	5	0	5	中	0	0	0	0
4	4	清洗 2	120	5	0	5	中	0	0	0	0
5	5	清洗 2	60	5	290	5	中	0	0	0	0
6	6	洗脱	360	20	0	2	中	60	60	60	60
7	3	弃磁珠	15	0	0	5	强	0	0	0	0

#### 5. 核酸转移

程序运行完毕，取下96孔板，将洗脱液转移至干净EP管中，提取过程完毕，此时可弃去96孔板。

##### 【手动版操作步骤】

##### 1. 样本裂解

向2.0mL EP管中顺序加入200μL样本、20μL蛋白酶K溶液和200μL裂解液，盖好EP管盖，高速涡旋振荡30s，置于58℃环境中裂解10min。

注：每增加100μL样品，需相应增加10μL蛋白酶K溶液用量。

##### 2. 核酸结合

裂解完毕，向EP管中顺序加入100μL磁珠悬浮液（提前充分摇匀）和300μL异丙醇，涡旋混匀5min。

##### 3. 磁性分离

将EP管置于磁力架上静置20s至磁珠吸附完全，如果EP管内盖有液体，可保持EP管在磁力架上，整体上下颠倒2~3次，使磁珠完全被磁力架吸附。保持EP管固定于磁力架上，用移液枪完全弃去上清液，期间避免接触磁珠。

##### 4. 清洗1

向EP管中加入600μL清洗液，将EP管从磁力架上取下，剧烈摇动使磁珠充分分散，涡旋震荡1min，然后参照步骤3进行磁性分离。

##### 5. 清洗2

使用600μL 80%乙醇，参照步骤4操作2次。

## 6. 除醇

将弃尽上清液后的EP管从磁力架上取下，放入事先准备好的50~55℃金属浴中，打开EP管盖，准确烘干3min，烘干结束应无确明显乙醇味。

*注：切勿烘干时间过长，否则磁珠容易结板，影响后续洗脱效果。*

## 7. 核酸洗脱

取出EP管，加入50~200 $\mu$ L洗脱液，移液枪吹打使磁珠与洗脱液充分混匀，将EP管置于56~60℃金属浴中静置5min，期间涡旋振荡30s混匀一次。

## 8. 核酸转移

将EP管置于磁力架上静置20s至磁珠吸附完全，用移液枪将洗脱液转移至另一干净EP管中，提取过程完毕，此时可以弃去磁珠。

版权声明：© 英芮诚生化科技（上海）有限公司保留本使用指南的所有权利。版本：V201811.291

**英芮诚生化科技（上海）有限公司**

地址：上海市杨浦区国权北路 1688 号湾谷科技园 A8 座 303 室

电话：021-55809378

网址：[www.bio-enriching.com](http://www.bio-enriching.com)

电子邮件：[marketing@bio-enriching.com](mailto:marketing@bio-enriching.com)