

高通量自动化磁珠法血液 DNA 提取技术

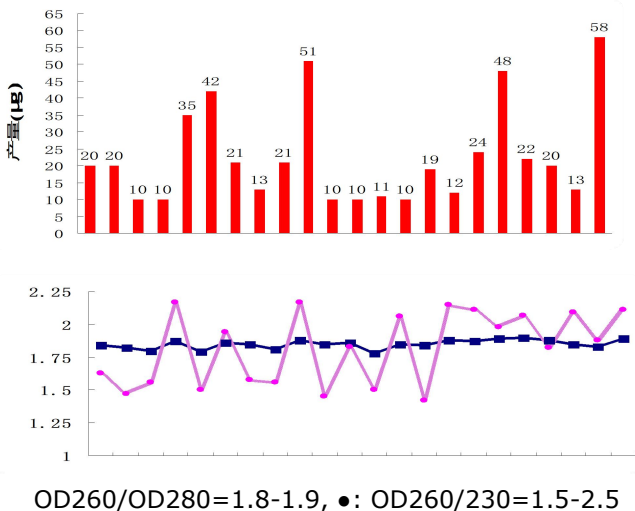
简介

血液样品中含有丰富的 DNA，是分子生物学研究，法医检测和遗传病检测等重要来源。目前提取血液中基因组 DNA 的方法有许多，常用的方法有酚氯仿抽提、硅胶柱纯化、二氧化硅磁珠粒子纯化、离子交换层柱、以及盐析法等等。这些方法各有优缺点。随着分子诊断技术和分子生物学的不断发展，越来越多的生物样品需要进行分析，自动化高通量的 DNA 提取纯化技术是越来越显得重要。Magen 公司的 MagPure Blood DNA Kit 是专门为高通量的血液 DNA 提取而设计的。该产品采用改良的二氧化硅磁珠纯化技术，可高通量地从抗凝血液中提取高纯度的 DNA。该产品已在自动化核酸提取仪 KingFisher Flex 上，以及自动化移液工作站如 Versa 1000, Beckmex 上得到广泛的应用。为进一步验证该产品的性能，我们选择了血液样品，用 KingFisher Flex 进行提取，提取后采用 Nanodrap 2000 测量 OD 值，以电泳和 PCR 等相关手段进行分析。结果表明，MagPure Blood DNA Kit 纯化得到的核酸可满足各种分子生物学运用，在 KingFisher Flex 上处理 96 个样品只需 40 分钟，大大提高了提取效率和稳定性。

实验结果

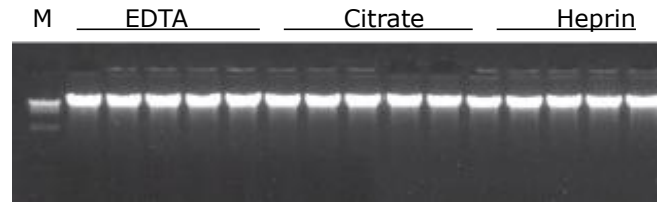
1. DNA 的纯度

取 200ul 人体血液 DNA(8000 份)，按 MagPure Blood DNA Kit 和 KingFisher Flex 进行提取，提取后选 22 份样品用 Nanodrap 2000 测量结果以下。由数据可知，200ul 人体血液 DNA 产量约 10-58ug(其中部分是 Buffy coat 样品)， $OD_{260}/OD_{280}=1.81-1.92$ ， $OD_{260}/OD_{230}=1.5-2.5$ 。



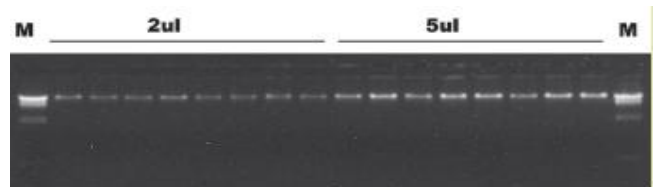
2. 从不同抗凝剂的人体血液中提取 DNA

取 200ul 采用不同抗凝剂的人体血液，按 MagPure Blood DNA Kit 提取 DNA，提取后取 5% 纯化的 DNA 上样于 0.8% 琼脂糖凝胶电泳分析结果(下图)。结果表明，使用该方法得到的 DNA 片段完整，处理不同抗凝剂的血液都可以获得理想的效果。



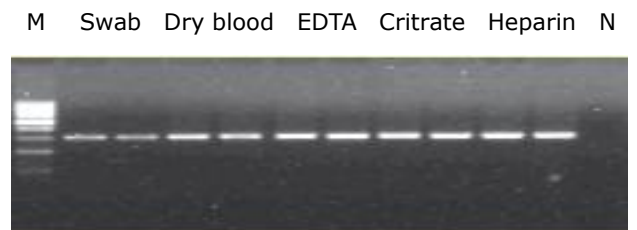
3. 微量血液 DNA 提取

取 2ul 和 5ul 人体抗凝血液，稀释至 200ul 后，用 MagPure Blood DNA Kit 提取后，取 50% 洗脱的 DNA 上样于 0.8% 琼脂糖凝胶电泳结果(下图)。结果表明，该方法可高效提取得到基因组 DNA，在微量的样品中也能高效回收 DNA。



4. PCR 验证结果

取口腔拭子 DNA，干燥血斑 DNA，以及不同抗凝剂的血液 DNA，用 PCR 扩增 400bp DNA 片段的结果以下。结果表明，使用 MagSi Blood DNA Kit 得到的 DNA 可直接用于 PCR。

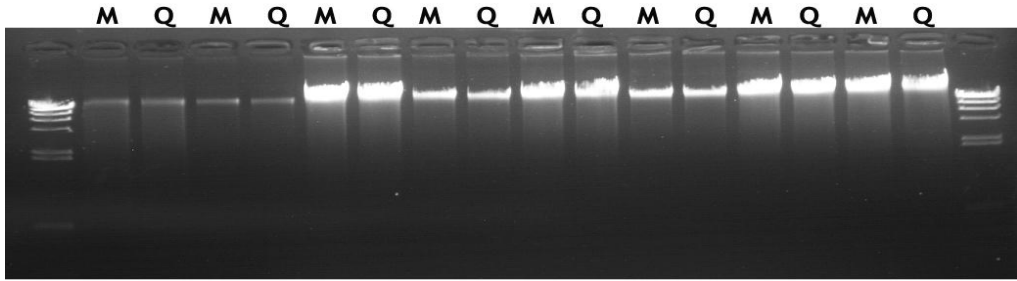


5. 自动化平台上工作时间

| 自动化平台名称 | 仪器特征 | 所需时间 |
|-----------------|------------|-------|
| KingFisher Flex | 96 孔提取仪 | 40 分钟 |
| Versa 1000 | 8 通道移液工作站 | 90 分钟 |
| Beckmex 2000 | 8 通道移液工作站 | 90 分钟 |
| 手工操作时间 | 配 96 孔涡旋仪, | 30 分钟 |

| Sample ID | 样品体积 | Samples | Nucleic Acid Conc. | Unit | A260 | A280 | 260/280 | Yield |
|-----------|--------|---------|--------------------|-------------|-------|-------|---------|-------|
| Magen | | 1 | 19.8 | ng/ μ l | 0.395 | 0.217 | 1.82 | 2.0 |
| Qiagen | | | 19.3 | ng/ μ l | 0.386 | 0.216 | 1.79 | 1.9 |
| Magen | | 2 | 20.9 | ng/ μ l | 0.417 | 0.228 | 1.83 | 2.1 |
| Qiagen | | | 19.9 | ng/ μ l | 0.398 | 0.222 | 1.79 | 2.0 |
| Magen | | 3 | 94.7 | ng/ μ l | 1.894 | 1.049 | 1.81 | 9.5 |
| Qiagen | | | 81.9 | ng/ μ l | 1.637 | 0.915 | 1.79 | 8.2 |
| Magen | | 4 | 31.6 | ng/ μ l | 0.632 | 0.348 | 1.82 | 3.2 |
| Qiagen | 200ul | | 30.6 | ng/ μ l | 0.612 | 0.327 | 1.87 | 3.1 |
| Magen | 人体抗凝全血 | 5 | 48.7 | ng/ μ l | 0.974 | 0.540 | 1.81 | 4.9 |
| Qiagen | | | 48.5 | ng/ μ l | 0.969 | 0.544 | 1.78 | 4.8 |
| Magen | | 6 | 34.9 | ng/ μ l | 0.697 | 0.384 | 1.81 | 3.5 |
| Qiagen | | | 31.3 | ng/ μ l | 0.626 | 0.347 | 1.80 | 3.1 |
| Magen | | 7 | 55.2 | ng/ μ l | 1.104 | 0.607 | 1.82 | 5.5 |
| Qiagen | | | 54.7 | ng/ μ l | 1.093 | 0.604 | 1.81 | 5.5 |
| Magen | | 8 | 62.7 | ng/ μ l | 1.254 | 0.689 | 1.82 | 6.3 |
| Qiagen | | | 59.7 | ng/ μ l | 1.193 | 0.659 | 1.81 | 6.0 |

Human Blood



| Sample | 样品类型 | Nucleic Acid Conc. | Unit | A260 | A280 | 260/280 | Yield |
|--------|--------|--------------------|-------------|-------|-------|---------|-------|
| 1 | | 59.75 | ng/ μ l | 1.195 | 0.657 | 1.82 | 7.17 |
| 2 | | 62.25 | ng/ μ l | 1.245 | 0.697 | 1.79 | 7.47 |
| 3 | | 64.30 | ng/ μ l | 1.286 | 0.702 | 1.83 | 7.72 |
| 4 | | 63.60 | ng/ μ l | 1.272 | 0.709 | 1.79 | 7.63 |
| 5 | | 29.70 | ng/ μ l | 0.594 | 0.329 | 1.81 | 3.56 |
| 6 | | 31.85 | ng/ μ l | 0.637 | 0.356 | 1.79 | 3.82 |
| 7 | | 31.60 | ng/ μ l | 0.632 | 0.348 | 1.82 | 3.79 |
| 8 | 200ul | 30.60 | ng/ μ l | 0.612 | 0.327 | 1.87 | 3.67 |
| 9 | 人体抗凝全血 | 28.70 | ng/ μ l | 0.574 | 0.318 | 1.81 | 3.44 |
| 10 | | 38.45 | ng/ μ l | 0.769 | 0.432 | 1.78 | 4.61 |
| 11 | | 19.85 | ng/ μ l | 0.397 | 0.219 | 1.81 | 2.38 |
| 12 | | 21.80 | ng/ μ l | 0.436 | 0.242 | 1.80 | 2.62 |
| 13 | | 25.20 | ng/ μ l | 0.504 | 0.277 | 1.82 | 3.02 |
| 14 | | 34.65 | ng/ μ l | 0.693 | 0.383 | 1.81 | 4.16 |
| 15 | | 34.15 | ng/ μ l | 0.683 | 0.372 | 1.84 | 4.10 |

