

# 全新的 MagNA Pure 96 DNA 和 病毒核酸试剂盒

Michael Kirchgesser\*, Agnes Aschenbrenner, Irene Huber, Sarah Müller, Heike Girgnhuber, Hubert Schuldlos, Anna Werner, Werner Malmberg, Robert Steiner, Martin Victor, Thomas Kirschbaum, Claudia Kappelsberger, Michael Knoll, and Peter Wenzig

德国匹茨堡, 罗氏应用科学部

\*通讯作者:

[michael.kirchgesser@roche.com](mailto:michael.kirchgesser@roche.com)

## 前言

MagNA Pure 96 是最近进入市场的一种全新仪器: 它是一种全自动、超高速的系统, 它能用于将高质量核酸从各种样品类型中高速分离, 1 小时以内即可完成多至 96 个样本的自动纯化, 处理的样品容量最高达到 1 ml。该系统采用装有预装式即用型试剂的优化试剂盒, 并配有相应的自动分离方法。这种试剂盒的配置基于沿用已久的磁珠技术, 后者成功用于不同的 MagNA Pure 系统已有多年。MagNA Pure 96 试剂盒由配有不同预装式密封缓冲液容器的试剂盘和含磁粉的专用瓶组成。

可提供的所有试剂盒都有小容量 (SV) 和大容量 (LV) 的不同规格, 可根据要处理的样品量决定。 本文描述了 2 种 MagNA Pure 96 DNA 和病毒核酸试剂盒及其方法的特征和性能。

## 材料和方法

新的试剂盒及方法是用人 EDTA 血浆、枸橼酸盐血浆、血清和全血以及培养细胞 (K562 和 HeLa) 作为样品材料开发和测试的。

全血不需要经过预处理即可用于基因组 DNA 分离。 培养细胞小球在使用前要悬浮于 PBS 中。

在病毒核酸分离时, 使用前在样品中添加不同量的 DNA 病毒 (巨细胞病毒、EB 病毒、细小病毒 B19) 和 RNA 病毒 (甲型肝炎病毒、甲型 H1N1 流感病毒)。然后用移液管将样品移入 MagNA Pure 96 仪器上的 MagNA Pure 96 处理盒中。所有样品至少以 8 倍复制进行试验。根据实验需要, 纯化核酸的洗脱体积被设定为 50 $\mu$ l、100 $\mu$ l 或 200 $\mu$ l。在 LightCycler® 480 仪器上采用吸光度 (OD) 测定、琼脂糖凝胶电泳和/或参数特定的定量实时 PCR 和 RT-PCR 分析对洗脱液进行分析。采用 15 $\mu$ l 各自混合母液和 5 $\mu$ l 各自洗脱液建立扩增反应, 运行 45 个循环。

## 结果和讨论

### 一般特征

试剂盒的组成: 排列在试剂盘中的预装式试剂容器, 便于加载; 分开放置、含磁珠 (MGP) 悬液的瓶子 (图 1)。试剂盘和瓶子都在运行前放入仪器抽屉中各自的位置。使用后容器可以方便地重新密封, 并保存以待必要时进行后续的运行。MGP 瓶具有特殊的瓶盖, 可以在仪器的针穿过后自动重新密封。所有组件在室温下都能保持稳定。

MagNA Pure 96 DNA 和病毒核酸小容量规格用于从 200 $\mu$ l 全血, 或从  $5 \times 10^5$  个培养细胞中分离基因组 DNA。 它还可以从 200 $\mu$ l 血浆、血清或全血中分离病毒 DNA 或 RNA。试剂盒包括 3 个预

装式试剂容器，每个容器最多可进行 192 次反应（即每个试剂盒进行 576 次纯化）。



图 1: 试剂盒组件。

试剂盒、试剂盘、磁珠瓶。

MagNA Pure 96 DNA和病毒核酸试剂盒大容量规格用于从 500µl 或 1000µl 全血或从 10<sup>6</sup> 个培养细胞中分离基因组DNA。它能从 500µl 血浆、血清或全血，或从 1000µl 血浆或血清中分离病毒 DNA 或 RNA。试剂盒包括 3 个预装式试剂容器，每个容器最多可进行 96 次反应（500µl）或 48 次反应（1000µl）（即每个试剂盒分别进行 288 或 144 次纯化）。

[点击索取 MagNA Pure 96 DNA 和病毒核酸试剂盒的更多资料](#)

如果需要的话，试剂盒可用于不同的优化方法，包括外部溶解方法可供选用，从而允许在 MagNA Pure 96 仪器外进行病毒灭活。对于所有方法，核酸从不同容量的样品中都可以方便地洗脱，样品的不同容量可以由用户选择。

### 基因组 DNA

基因组 DNA 的分离及其后续分析显示可重复性、产量、完整度和纯度都很高。根据琼脂糖凝胶分析，DNA 片段平均显著大于 20 kb（图 2）。

表 1 总结了典型的 DNA 产率和纯度。请注意产率显著依赖于血细胞数，因此变化可能达到 2 倍。

样品类型	样品量	DNA 产量 (µg)	DNA 纯度 (OD260/280)	试剂盒类型
血	200 µl	6.6 µg	1.9	SV
血	500 µl	16.5 µg	2.0	LV
培养细胞	5 x 10 <sup>5</sup>	10.4 µg	2.0	SV
培养细胞	1 x 10 <sup>6</sup>	22.0 µg	2.0	LV

如 LightCycler® 480 仪器中进行的 PCR 之前的稀释实验所示（数据未显示），DNA 也被证明不含 PCR 抑制剂。

用不同量的血液与样品检测了该程序的定量性。结果见图 3。

### 病毒核酸

### 线性范围

达到了纯化病毒 DNA 和 RNA 的高产率。从较宽的浓度范围分离病毒核酸是可能的（图 4）。

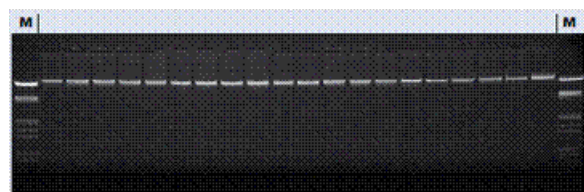


图 2: 对血液中分离的 DNA 的琼脂糖凝胶(显示 20 个复本)。在 21 kb 位置的 DNA 带显示了分离 DNA 的高完整性。（M=分子量标记 III）

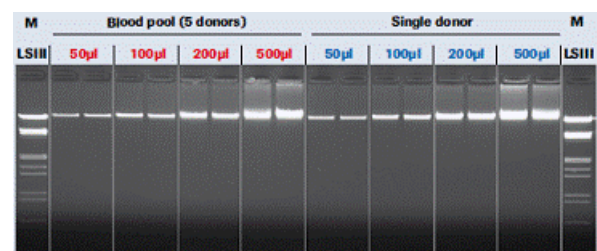


图 3: 可量测性。从不同量血液中分离的 DNA 的琼脂糖凝胶分析显示纯化法的可量测性良好。

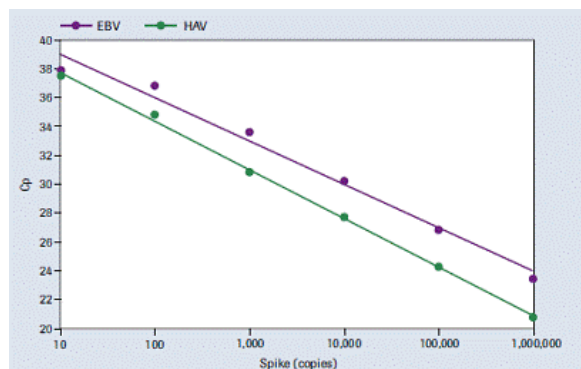


图 4: 线性范围。每份样品中加样浓度为 10-106 拷贝的 Epstein-Barr 病毒 (EBV) DNA 和甲型肝炎病毒 RNA 的分离。

#### 内部质控和可重复性

MagNA Pure 96 系统能在每次分离反应中都包括一次内部质控 (IC)。IC 从机载 IC 管中自动移入每个孔中的溶解缓冲液中。在一次纯化操作的所有 96 个孔中, 采用稀释的细小病毒 B19 质粒作为 IC, 阴性血清作为样品材料来检查该功能。IC 的分离具有很高的可重复性 (图 5)。

#### 交叉污染试验

进行这些试验是为了考查 MagNA Pure 96 仪器上可能孔间污染的程度。细小病毒 B19 被选作这些试验的敏感参数; 检测极限大约为每次 PCR 2.5 个拷贝。然后以  $5 \times 10^7$  拷贝/ml (=检测极限以上 106 倍) 向血浆加样, 用大容量方法 (500 $\mu$ l 样品) 和 50 $\mu$ l 洗脱体积在 MagNA Pure 96 仪器处理。

进行 3 次“棋盘式”运行 (每次有 48 份阳性加样血浆样品和 48 份阴性未加样血浆样品排列成棋盘状)。在 LightCycler® 480 仪器上对洗脱液进行分析。在这些条件下未发现交叉污染 (图 6)。

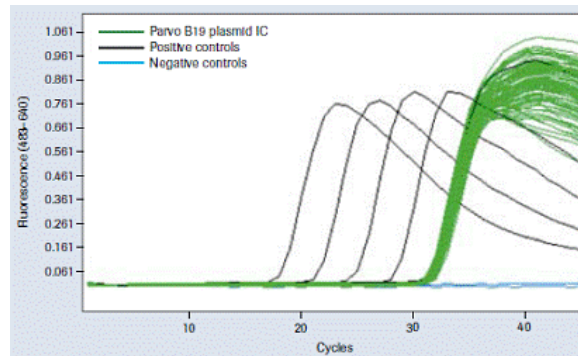


图 5: 内部质控品。从所处理样品盒的所有 96 个孔中分离出的细小病毒 B19 内部质控品的 PCR 分析。

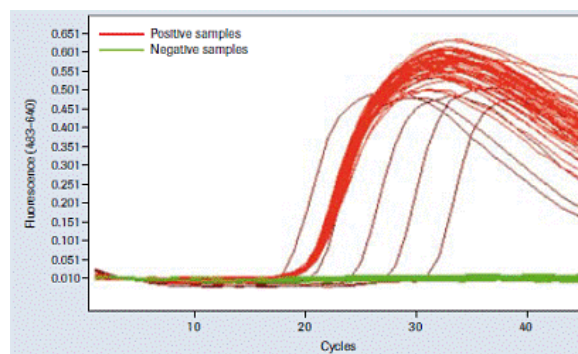


图 6: 交叉污染试验。48 份阳性和 48 份阴性样品排列成棋盘状, 经过处理, 进行交叉污染分析。所有阴性样品鉴定结果均为“阴性”, 而所有阳性样品和所有质控品都显示了预期的信号。该试验重复了 3 次, 均得到相同的结果。

#### “血浆用”和“通用”方法

在方法优化期间发现, 有些样品材料 (即: 血清、全血和枸橼酸盐血浆) 在与“标准”材料 EDTA 血浆不同的工作流程下能得到更好的结果。因此, 在“血浆用操作方法”之外, 还提供另一种“通用操作方法”, 后者能使这些样品类型得到更好的结果 (达到 5 个交叉阈值)。选用“通用操作方法”这个名称是因为这些方法对于血清、全血和枸橼酸盐血浆, 优于“血浆用操作方法”; 而对于 EDTA 血浆, 至少对所检测的病毒 (甲型肝炎病毒、甲型 H1N1 流感、EB 病毒、巨细胞病毒) 是与“血浆用操作方法”相等的。由于结果可能随个别实验设备和所检测参数的不同而变化, 因此在仪器的方法菜单中提

供不同的方法供选择，使用户能选择对实际应用的  
最佳解决方案。

[免费申请罗氏的《实时定量PCR技术原理概要》](#)

### 结论

新的 MagNA Pure 96 DNA 和病毒核酸试剂盒能从多种样品材料中全自动高效分离 DNA 和病毒核酸，具有高速和高产率。用户可以根据特殊需要在几个不同方法间作出选择。此外，该试剂盒所能处理的样品容量范围也很大。因此，对于检测工作量大的实验室来说，新的试剂盒将成为有用的工具。

产品	包装大小	编号
<b>MagNA Pure 96 高通量全自动核酸分离纯化系统</b>	仪器、质控品、软件、所有配件	05 195 322 001
<b>MagNA Pure 96 DNA 和病毒核酸小容量试剂盒</b>	3×192 次纯化	05 467 497 001
<b>MagNA Pure 96 DNA 和病毒核酸大容量试剂盒</b>	3×96 次纯化	05 467 454 001
<b>MagNA Pure 96 细胞 RNA 小容量试剂盒</b>	3×192 次纯化	05 467 543 001
<b>MagNA Pure 96 细胞 RNA 大容量试剂盒</b>	3×96 次纯化	05 467 535 001