

目 录

简介	2
原 理	2
试剂盒组成	3
保质期	3
准备工作	4
方案 1: 300 μ l 游离 DNA 的手工单管式抽提方案	5
方案 2: 300 μ l 游离 DNA 的手工 96 孔板抽提方案	5
方案 3: 300 μ l 游离 DNA 的移液工作站抽提方案	7
常见问题回答	8

版本: 2010-01

简介

MagPure Circulating DNA LQ Kit 为血清、血浆等无细胞液体样品的游离 DNA(>50bp)提取提供了一个简单快速的解决方案。试剂盒基于超顺磁性的磁性粒子纯化技术，提取过程中无需使用有毒的酚氯仿抽提，也无需进行耗时的醇类沉淀，整个提取过程只需 60 分钟。该试剂盒可在 Haminton 移液工作站、KingFisher ML、KingFisher Flex、KingFisher Duo 等自动化核酸提取仪上使用。获得的 DNA 可直接用于 PCR、病毒 DNA 检测等实验。

原理

MagPure 纯化系统采用高结合力的超顺磁性的磁性粒子为基质，在高浓度离子化剂(如盐酸胍或异硫氰酸胍)条件下，纳米磁性粒子可通过氢键和静电吸附核酸，而蛋白质或其它杂质不被吸附而去除。吸附了核酸的纳米粒子经洗涤去除蛋白质和盐，最后可以用低盐缓冲液(如 Buffer TE)或水，洗脱出粒子上的核酸。得到的核酸纯度高，可直接用于各种下游实验。MagPure 系统采用的溶液体系和纯化方式是专门为自动化核酸提取而设计的，已在 KingFisher 自动化核酸纯化仪上广泛运用。其它提取仪或移液工作站也可以使用。

MagPure Circulating DNA LQ Kit 基于高结合力的纳米磁性粒子的纯化方式。样品在裂解液和蛋白酶的作用下裂解消化，DNA 释放到裂解液中。加入结合液和磁性粒子吸附 DNA，而蛋白质则不被吸附而去除。吸附了 DNA 的粒子经洗涤液洗涤去除蛋白质和其它杂质，再经含乙醇洗涤去除盐分，最后 DNA 被低盐缓冲液(Buffer TE)洗脱。洗脱的 DNA 可直接用于 PCR、病毒检测等实验。

组 成**MagPure Circulating DNA LQ Kit**

产品编号	D6332-00	D6332-01	D6332-02
纯化次数	24 次	48 次	96 次
MagPure Particle G	1.0 ml	1.5 ml	3 ml
Proteinase K	12 mg	24 mg	50 mg
Protease Dissolve Buffer	1.8 ml	1.8 ml	5 ml
Buffer MLF	15 ml	30 ml	60 ml
Buffer MW1 *	6.6 ml	22 ml	44 ml
Buffer MW2 *	5 ml	20 ml	50 ml
Buffer AE	2 ml	10 ml	20 ml
说明书	1	1	1

注： Buffer MW1, Buffer MW2 使用前须用无水乙醇进行稀释。

保 质 期

MagPure Circulating DNA LQ Kit 除 MagPure Particles G 和 Proteinase K 外，可在室温下 (15-25℃)干燥保存 18 个月。长期保存需置于 2-8℃。MagPure Particles G 和 Proteinase K 干粉在室温下运输。收到试剂盒后，把 Proteinase K 保存于-20℃。MagPure Particles G 保存于 2-8℃。

准备工作

- 无水乙醇
- 溶解 Proteinase K (20mg/ml): 加入适量的 Protease Dissolve Buffer 至 Proteinase K 干粉中至终浓度为 20mg/ml, 轻轻颠倒让蛋白酶 K 充分溶解。Proteinase K 干粉在 2-8℃ 保存一年, 但溶解的 Proteinase K 须分装保存于-20℃。反复冻溶 Proteinase K 会影响其活性。
- Buffer MW1 使用前, 须按瓶子标签所示, 加入无水乙醇进行稀释。
- Buffer MW2 使用前, 须按瓶子标签所示, 加入无水乙醇进行稀释。
- MagPure Particles G 初次使用时, 必须剧烈摇晃 1~2 分钟让磁珠充分分散。
- Nunc U96 DeepWell Plate(Cat.No. 260251) [高通量]
- 96 孔振荡仪, 如 IKA MS3 Vortex, Eppendorf MixMate [手工高通量]
- 单管磁力架[手工单管]或 96 孔磁力架, MG96-1 [手工高通量]
- 封口膜 [手工高通量]

方案 1. 300 μ l 游离 DNA 的单管式手工抽提方案

该方案适合于从 300 μ l 血清、血浆样品中提取游离 DNA(>50bp)。

1. 在 1.5ml 离心管中，加入 20 μ l Proteinase K 和 25 μ l MagPure Particles G。
2. 转移 300 μ l 血清或血浆样品至含蛋白酶 K 的离心管中，振荡混匀 5 秒。
3. 加入 500 μ l Buffer MLF 至样品中，颠倒混匀数次。室温颠倒混匀 10~15 分钟。转移至磁力架上，静置 3 分钟吸附磁珠，小心吸弃所有溶液。
4. 加入 600 μ l Buffer MW1，涡旋混匀 10 秒。转移至磁力架上，静置 2 分钟吸附磁珠。小心吸弃所有溶液。
5. 加入 600 μ l Buffer MW2，涡旋混匀 10 秒。转移至磁力架上，静置 2 分钟吸附磁珠。小心吸弃所有溶液。
6. 加入 600 μ l Buffer MW2，涡旋混匀 10 秒。转移至磁力架上，静置 2 分钟吸附磁珠。小心吸弃所有溶液。
7. 短暂离心，小心吸弃所有溶液。空气干燥 10 分钟。
8. 加 30~50 μ l Buffer AE，涡旋打散磁珠。振荡混匀 3 ~5 分钟。短暂离心收集液滴，转移至磁力架上，静置 1 分钟。
9. 转移 DNA 溶液至新的 1.5ml 离心管中。

方案 2. 300 μ l 游离 DNA 手工高通量抽提方案

该方案适合于从 96 个 300 μ l 血清、血浆样品中提取游离 DNA(>50bp)。

1. 在 2.2ml 96 孔板深孔板中，每孔加入 20 μ l Proteinase K 和 25 μ l MagPure Particle G。
2. **转移 300 μ l 血清或血浆至含蛋白酶 K 的孔中，振荡混匀 10 秒。**
3. **加入 500 μ l Buffer MLF 至样品中，900rpm 振荡混匀 10 分钟。**
4. 转移至磁力架上，静置 3 分钟吸附磁珠。将磁力架和 96 孔板扣在一起，反转 180 度倒弃废液，然后反扣于一叠吸水纸 1 分钟吸尽残液。【在反转倒废液时，让磁力架和 96 孔板紧扣一起不要松动，以防止磁珠的丢失。废液倒完后，反扣于吸水纸上吸尽孔口的残液，不要让溶液回流到孔中。】
5. **加入 600 μ l Buffer MW1，1,000rpm 振荡混匀 1 分钟。**
6. 转移至磁力架上吸附 3 分钟。将磁力架和 96 孔板扣在一起，反转 180 度倒弃废液，然后反扣于一叠吸水纸 1 分钟吸尽残液。
7. **加入 600 μ l Buffer MW2，1,000rpm 振荡混匀 1 分钟。**
8. 转移至磁力架上吸附 3 分钟。将磁力架和 96 孔板扣在一起，反转 180 度倒弃废液，然后反扣于一叠吸水纸 1 分钟吸尽残液。
9. 重复第 7-8 步一次。
10. 让磁力架和 96 孔板反扣于吸水纸 5 分钟彻底吸弃残液。正放，空气干燥 15 分钟。
11. **加 30~50 μ l Buffer AE，900rpm 振荡混匀 5 分钟。**
12. 转移至磁力架上，静置 3 分钟。
13. 转移 DNA 溶液至新的 96 孔板中。

方案 3. 300 μ l 游离 DNA 的移液工作站抽提方案

该方案适合于从 96 个 300 μ l 血清、血浆样品中提取游离 DNA(>50bp)。由于不同的移液工作站的设置和配件都有所不同，请根据平台进行调整，以下流程是根据 Haminton 移液工作站而设计。

1. 在 Nunc 96 孔 2.2ml 深孔板中，每孔加入 20 μ l Proteinase K 和 25 μ l MagPure Particles G。[为提高加液的精确度，Proteinase K 和 MagPure Particles G 可预先混合，该混合液可在 2~8 $^{\circ}$ C 保存一周。]
2. 转移 300 μ l 血清或血浆样品至含蛋白酶 K 的孔中。振荡混匀 5 秒。
3. 加入 500 μ l Buffer MLF，振荡(900rpm)温育 10 分钟。
4. 转移至磁力架上，静置 3 分钟吸附磁珠。小心吸弃所有溶液。
5. 加入 600 μ l Buffer MW1，1,000rpm 振荡 1 分钟。
6. 转移至磁力架上，静置 3 分钟吸附磁珠。小心吸弃所有溶液。
7. 加入 600 μ l Buffer MW2，1,000rpm 振荡 1 分钟。
8. 转移至磁力架上，静置 3 分钟吸附磁珠。小心吸弃所有溶液。
9. 重复第 8~9 步一次。[这一步吸弃溶液时，要缓慢吸取，以确保彻底吸弃溶液]
10. 50 $^{\circ}$ C 干燥 10 分钟。
11. 加 30~50 μ l Buffer AE，1,000rpm 振荡 5 分钟。
12. 转移至磁力架上，静置 2 分钟。
13. 转移 DNA 溶液至新的 96 孔板中。

常见问题解答

该列表可能有利于解决提取过程所碰到的问题。Magen 的技术人员可随时为您提供服务，若您对试剂盒存在问题或建议，或您在分子生物学碰到问题，都请您联系我们。我们将竭尽所能为您排忧解难。

现象及原因	解决方法
DNA 有颜色	
Proteinase K 与 Buffer MLF 不能预先混合	Proteinase K 与 Buffer MLF 不能预先混合。样品与蛋白酶 K 先进行混匀后，才能加入 Buffer MLF。
Proteinase K 活性下降	使用新制备的 Proteinase K。Proteinase K 需要分装保存，用完后，立即保存于-20℃。
血液贮藏条件不正确	血液样品因贮藏条件不对，出现凝固块。用移液枪吸打几次打散血液样品的凝固块。
DNA 产量低	
样品中细胞或病毒含量低	处理无细胞的体液时可用超滤柱浓缩于 250μl。
Proteinase K 活性下降	使用新制备的 Proteinase K。Proteinase K 需要分装保存，用完后，立即保存于-20℃。
Buffer MW1/MW2 中乙醇没有加入或加入量不够	按说明书或瓶子标签所示，加入正确数量的乙醇。
MagPure Particles G 没有充分打散	初次使用 MagPure Particles G 时，必须剧烈振荡 1-2 分钟以充分打散 MagPure Particles G。
洗脱体积不够	增加洗脱体积以提高洗脱效率