

MagPure FFPE DNA/RNA Kit D

磁珠法 FFPE DNA RNA 提取试剂盒 D

本产品为石蜡包埋组织样品 DNA/RNA 提取提供了一个自动化解决方案，可以从同一份石蜡包埋组织切片样品中提取得到 RNA 和 DNA。纯化的 RNA 可直接用于 RT-PCR、Northern blot、核酸保护和体外翻译等实验。纯化的 DNA 可直接用于 PCR、Southern 杂交等实验。

产品组份

- 瓶装试剂

产品编号	D6327-01D	D6327-02D	D6327-03D
纯化次数	48 次	96 次	480 次
MagBind Particles	2 x 1.1 ml	4.5 ml	22 ml
Buffer DPS	40 ml	90 ml	450 ml
Buffer FRL	15 ml	30 ml	120 ml
Buffer ATL	15 ml	30 ml	120 ml
Buffer ALB	60 ml	120 ml	550 ml
DNase I	600 μ l	2 x 600 μ l	10 x 600 μ l
DNase Booster Buffer	1.5 ml	3 ml	15 ml
Proteinase K	50 mg	100 mg	500 mg
Protease Dissolve Buffer	5 ml	10 ml	30 ml
Buffer MW1 *	22 ml	44 ml	3 x 110 ml
Buffer MW2 *	20 ml	50 ml	2 x 100 ml
Nuclease Free Water	15 ml	30 ml	30 ml

保存条件

本产品室温运输，长期保存时，把 MagBind Particles 保存于 2-8 $^{\circ}$ C，Proteinase K 干粉和 DNase I 保存于 -20~8 $^{\circ}$ C，其余产品保存于室温，有效期 18 个月。

产品组份

预分装试剂, 版本, 尖底板

货号	预分装试剂和装量	D6327D-TL-06 96 人份	D6327D-S-48 48 人份
DNase I		2 x 600 µl	600 µl
DNase Booster Buffer		3 ml	1.5 ml
Proteinase K		100 mg	50 mg
Protease Dissolve Buffer		6 ml	6 ml
Buffer DPS		90 ml	40 ml
Buffer FRL		30 ml	15 ml
Buffer ATL		30 ml	15 ml
DA-Tip		12 个	24 个
2.0ml 尖底板	第1/7排孔: 500µl Buffer ALB	6 块	48 条
	第2/8排孔: 500µl Buffer ALB		
	第3/9排孔: 500µl Buffer MW1		
	第4/10排孔: 500µl Buffer MW2 30µl MagBind Particle		
	第5/11排孔: 500µl Buffer MW2		
	第6/12排孔: 80µl Nuclease Free Water		

【储存条件及有效期】

本产品室温运输, 长期保存时, 把 Proteinase K 和 DNase I 保存于-20~8℃, 其余产品保存于室温, 有效期 18 个月。

【准备工作】

- 溶解 Proteinase K: 加入 Protease Dissolve Buffer 至瓶子中, 颠倒数次后保存于-20~8℃。
- Buffer MW1/MW2 使用前加入乙醇进行稀释。

第一部分: 样品的裂解和消化

1. 用手术刀去除多余石蜡, 切取数个(<6 片)切片并转移至 1.5~2.0ml 离心管中。加入 700µl 脱蜡液 DPS, 颠倒混匀, 56℃ 水浴 6 分钟, 立即涡旋混匀 15 秒让石蜡充分溶解。13,000 x g 离心 3 分钟, 吸弃脱蜡液, 残留少量的液体不影响提取。然后按 A, B, C 或 D 进行操作。

A. FFPE RNA 提取

2. 加入 200 μ l Buffer FRL 和 20 μ l Proteinase K, 混匀, 56 $^{\circ}$ C 温育 30 分钟, 80 $^{\circ}$ C 温育 30 分钟。
3. 13,000 \times g 离心 3 分钟, 按第 2/3 部分进行操作, 提取石蜡 RNA。

B. FFPE DNA 提取

2. 加入 200 μ l Buffer ATL 和 20 μ l Proteinase K 混匀, 56 $^{\circ}$ C 温育 60 分钟, 90 $^{\circ}$ C 温育 60 分钟。加入 10 μ l RNase A(另外订购), 混匀, 放置 10 分钟。13,000 \times g 离心 1 分钟, 按第 2/3 部分进行操作, 提取石蜡总核酸。

C. FFPE 总核酸 (DNA 和 RNA 不分开) 提取

2. 加入 200 μ l Buffer ATL 和 20 μ l Proteinase K 混匀, 56 $^{\circ}$ C 温育 60 分钟, 90 $^{\circ}$ C 温育 60 分钟。13,000 \times g 离心 1 分钟, 按第 2/3 部分进行操作, 提取石蜡总核酸。

D. FFPE RNA 和 DNA 共提取

2. 加入 250 μ l Buffer FRL 和 20 μ l Proteinase K 混匀。56 $^{\circ}$ C 温育 15~20 分钟, 冰上放置 10 分钟, 14,000 \times g 离心 10 分钟。转移 200 μ l 上清至离心管中, 80 $^{\circ}$ C 温育 20 分钟, 然后按第 2/3 部分进行石蜡 RNA 抽提。
3. 加入 150 μ l Buffer ATL 和 20 μ l Proteinase K 至残液和沉淀中, 混匀, 56 $^{\circ}$ C 温育 60 分钟, 90 $^{\circ}$ C 温育 60 分钟。短暂离心, 按第 2/3 部分进行石蜡 DNA 提取。

第二部分: 单管操作 (DNA 或 RNA 纯化)

- DNase 处理 RNA 消化液: 取第 1 部分的 A 和 C 步骤中的含 RNA 组份的消化液至 1.5ml 离心管中。加入 20 μ l DNase Booster Buffer, 涡旋混匀 5 秒, 冰上放置 5 分钟让 SDS 充分释出, 然后加入 10 μ l DNase I, 混匀 5 秒, 静置 20 分钟消化 DNA, 然后按以下方法进行操作。
1. **转移 200 μ l 消化液至 1.5ml 离心管中, 加入 400 μ l Buffer ALB 和 20 μ l MagBind Particles, 涡旋混匀 15 秒, 室温放置 8 分钟, 其间颠倒混匀次数。转移至磁力架上吸附 5 分钟, 倒弃或吸弃溶液。**
 2. **加入 500 μ l Buffer MW1, 涡旋 10 秒。**转移至磁力架上吸附 2 分钟。倒弃或吸弃溶液。
 3. **加入 500 μ l Buffer MW2, 涡旋 10 秒。**转移至磁力架上吸附 2 分钟。倒弃或吸弃溶液。
 4. **加入 500 μ l Buffer MW2, 涡旋 10 秒。**转移至磁力架上吸附 2 分钟。倒弃或吸弃溶液。
 5. 短暂离心, 吸弃所有溶液。打开管盖, 空气干燥 3 分钟。
 6. **加入 50 μ l Nuclease Free Water, 涡旋打散磁珠。室温放置 5~10 分钟。**转移至磁力架上吸附 5 分钟, 把 RNA 转移至新的离心管中。

第三部分：32/48 通道核酸提取仪的纯化操作

- DNase 处理 RNA 消化液: 取第 1 部分的 A 和 C 步骤中的含 RNA 的消化液至 1.5ml 离心管中。加入 20 μ l DNase Booster Buffer, 涡旋混匀 5 秒, 冰上放置 5 分钟让 SDS 充分释出, 然后加入 10 μ l DNase I, 混匀 5 秒, 静置 20 分钟消化 DNA, 然后按以下方法进行操作。
 1. 取出试剂盒的所需组份, 颠倒混匀让磁珠重悬。正放 1-2 分钟后, 撕去封口袋和封口膜。
 2. **DNA 或 RNA 提取(前处理 A/B/C):** 在第 1/7 排孔中, 加入 200 μ l 含 RNA 消化液(A), 200 μ l 含 DNA 消化液(B), 或含总核酸的消化液(C), 启动对应程序 DNA/RNA 程序。
 3. 把 96 孔板放到仪器中, 把 8 联磁力外套插到仪器中。20 分钟后, 提取结束。取出 96 孔板, 把 RNA 转移至 1.5ml 离心管中, 把产物保存于-20~8 $^{\circ}$ C。
 4. **DNA 提取(前处理 D, RNA 提取后再提取 DNA):** 在第 2/8 排孔中, 加入 200 μ l 含 DNA 消化液 (D), 并在 6/12 排孔, 补加入 80 μ l Elution Buffer。启动对应程序 DNA 再提取程序, 把 96 孔板放回仪器中。20 分钟后, 提取结束。取出 96 孔板, 把 DNA 转移至 1.5ml 离心管中, 保存于-20~8 $^{\circ}$ C。

附: MagMix 32/48 运作程序: DNA/RNA 程序, 适合于前处理 A/B/C 方案。

序号	名称	孔位	容积	混合时间		等待		磁吸时间			吸磁	加热	
				时间	速度	时间	位置	升降	液面	底部		板位	温度
1	吸磁	4	500	1 min	8	0	0	60s	0	40	自动	/	/
2	结合	1	800	6 min	8	0	0	90s	50	50	自动	/	/
3	清洗1	3	500	1 min	8	0	0	90s	30	30	自动	/	/
4	清洗2	4	500	1 min	8	0	0	60s	10	10	自动	/	/
5	清洗3	5	500	1 min	8	0	0	60s	10	10	自动	/	/
5	干燥	5	500	0	0	2	晾干	0	0	0	自动	/	/
6	洗脱	6	100	6 min	9	0	0	60s	0	40	自动	/	/
7	弃磁	2	500	1 min	9	0	0	0	0	0	自动	/	/

- 附: MagMix 32/48 运作程序: DNA 再提取程序, 前处理 D 方案, 提取 RNA 后, 再用旧板提取 DNA 程序。

序号	名称	孔位	容积	混合时间		等待		磁吸时间			吸磁	加热	
				时间	速度	时间	位置	升降	液面	底部		板位	温度
1	结合	2	800	4 min	8	0	0	90s	50	50	自动	/	/
2	清洗1	3	500	1 min	8	0	0	60s	30	30	自动	/	/
3	清洗2	4	500	1 min	8	0	0	60s	10	10	自动	/	/
4	清洗3	5	500	1 min	8	0	0	60s	10	10	自动	/	/
5	干燥	5	500	0	0	2	晾干	0	0	0	自动	/	/
6	洗脱	6	100	6 min	9	0	0	60s	0	40	自动	/	/
7	弃磁	5	500	1 min	9	0	0	0	0	0	自动	/	/