

目 录

简 介-----	2
原 理-----	2
试剂盒组成-----	3
保质期-----	3
准备工作-----	3
方案 1: 300 μ l 游离 DNA 的 KingFisher Flex 抽提方案-----	4
方案 2: 600 μ l 游离 DNA 的 KingFisher Flex 抽提方案-----	5
方案 3: 300 μ l 游离 DNA 的 KingFisher DUO 抽提方案-----	6
方案 4: 600 μ l 游离 DNA 的 KingFisher DUO 抽提方案-----	7
常见问题回答-----	8

版本: 2015-01

简介

MagPure Circulating DNA KF Kit 为血清、血浆等无细胞液体样品的游离 DNA 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。该试剂盒可在自动化核酸提取仪 KingFisher ML、KingFisher Flex、KingFisher Duo 上使用。得到的 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 KF 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 KF Kit

产品编号	MD5432-01	MD5432-02	MD5432-03
纯化次数(300µl)	50 次	200 次	500 次
MagPure Particle G	1.1 ml	4.5 ml	11 ml
Proteinase K	24 mg	140 mg	340 mg
Protease Dissolve Buffer	1.8 ml	10 ml	20 ml
Buffer MLF	30 ml	100 ml	250 ml
Buffer MW1*	13 ml	66 ml	220 ml
Buffer MW2*	20 ml	50 ml	3 x 50 ml
Buffer AE	10 ml	30 ml	100 ml
说明书	1	1	1

保 质 期

MagPure Circulating DNA KF Kit 除 MagPure Particles G 和 Proteinase K 外，可在室温下(15-25℃)干燥保存 18 个月。长期保存时需置于 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

- 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。

方案 1. 300 μ l 游离 DNA 在 KingFisher Flex 的标准方案

该方案适合于从 300 μ l 血清，血浆或其它无细胞样品中直接提取游离 DNA。

- 按下表将样品和试剂转移 DW Plate 中，并用标签笔标下板的名称。

板的名称	板类型	试剂名称与用量
Elution	浅孔板	Buffer AE: 50 μ l
Wash 3	深孔板	Buffer MW2: 500 μ l
Wash 2	深孔板	Buffer MW2: 500 μ l
Wash 1	深孔板	Buffer MW1: 500 μ l Comb(磁力套)
Sample Plate	深孔板	1. 加入 20 μ l Proteinase K 和 20 μ l MagPure Particles G。 2. 加入 300 μ l 血清或血浆，轻轻振荡 10 秒 3. 加入 420 μ l Buffer MLF

- 启动 KingFisher Bindit 3.3 程序，导入 MagPure_Circulating_DNA_FL1 程序。
- 执行程序，按提示将装有样品或试剂的 96 孔板放到仪器对应的槽中。
- 约 35 分钟后程序执行完毕。
- 取出 DNA 样品，用封口膜封好。
- 把 DNA 保存于-20 $^{\circ}$ C。

附加方案 2. 600 μ l 游离 DNA 在 KingFisher Flex 的抽提

该方案适合于从 600 μ l 血清，血浆或其它无细胞样品中直接提取游离 DNA。

- 按下表将样品和试剂转移 DW Plate 中，并用标签笔标下板的名称。

板的名称	板类型	试剂名称与用量
Elution	浅孔板	Buffer AE: 50 μ l
Wash 3	深孔板	Buffer MW2: 500 μ l
Wash 2	深孔板	Buffer MW2: 500 μ l
Wash 1	深孔板	Buffer MW1: 500 μ l Comb(磁力套)
Sample Plate	深孔板	1. 加入 20 μ l Proteinase K 和 20 μ l MagPure Particles G。 2. 加入 300 μ l 血清或血浆 3. 加入 420 μ l Buffer MLF
Sample Plate	深孔板	1. 加入 20 μ l Proteinase K 和 20 μ l MagPure Particles G。 2. 加入 300 μ l 血清或血浆 3. 加入 420 μ l Buffer MLF

- 启动 KingFisher Bindit 3.3 程序，导入 MagPure_Circulating_DNA_FL2 程序。
- 执行程序，按提示将装有样品或试剂的 96 孔板放到仪器对应的槽中。
- 约 40 分钟后程序执行完毕。
- 取出 DNA 样品，用封口膜封好。把 DNA 保存于-20 $^{\circ}$ C。

方案 3. 300 μ l 游离 DNA 在 KingFisher Duo 的提取

该方案适合于从 300 μ l 血清，血浆或其它体液样品中直接提取游离 DNA。

- 按下表将样品和试剂转移至 DW Plate 对应的孔中。

孔的名称	试剂
洗脱条	Buffer AE: 50 μ l
孔 F, G, H	空
孔 E (Wash 3)	Buffer MW2: 500 μ l
孔 D (Wash 2)	Buffer MW2: 500 μ l
孔 C (Wash 1)	Buffer MW1: 500 μ l
孔 B	磁力套
孔 A (样品孔)	<ol style="list-style-type: none"> 先加入 20μl Proteinase K 和 20μl MagPure Particles G。 然后加入 300μl 血清或血浆，轻轻振荡 10 秒 加入 420μl Buffer MLF

- 启动程序，导入 MagPure_Circulating_DNA_Duo 程序。
- 把装好试剂和磁力套的 DW Plate 放在仪器中，执行程序。
- 约 30 分钟后程序执行完毕。
- 取出 DNA 样品，用封口膜封好。
- 把 DNA 保存于 -20 $^{\circ}$ C。

附加方案 4. 600µl 游离 DNA 在 KingFisher Duo 的提取

该方案适合于从 600µl 血清，血浆或其它体液样品中直接提取游离 DNA。

1. 按下表将样品和试剂转移至 DW Plate 对应的孔中。

孔的名称	试剂
洗脱条	Buffer AE: 50µl
孔 G, H	空
孔 F (Wash 3)	Buffer MW2: 500µl
孔 E (Wash 2)	Buffer MW2: 500µl
孔 D (Wash 1)	Buffer MW1: 500µl
孔 C (样品孔 2)	<ol style="list-style-type: none"> 1. 加入 20µl Proteinase K 和 20µl MagPure Particles G 2. 加入 300µl 血清或血浆 3. 加入 420µl Buffer MLF
孔 B	磁力套
孔 A (样品孔 1)	<ol style="list-style-type: none"> 1. 加入 20µl Proteinase K 和 20µl MagPure Particles G。 2. 加入 300µl 血清或血浆 3. 加入 420µl Buffer MLF

2. 启动程序，导入 MagPure_Circulating_DNA_Duo2 程序。

3. 把装好试剂和磁力套的 DW Plate 放在仪器中，执行程序。

4. 约 30 分钟后程序执行完毕。

5. 取出 DNA 样品，用封口膜封好。

6. 把 DNA 保存于 -20°C。

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。
Buffer C 没有加入异丙醇稀释	按说明书或瓶子标签所示，加入正确的异丙醇。
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，加入正确的乙醇。
MagPure Particles G 没有充分打散	初步使用 MagPure Particles G 时，必须充分剧烈振荡 1-2 分钟以打散 MagPure Particles G。
洗脱体积不够	增加洗脱体积以提高洗脱效率