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：血液/组织/细胞 DNA 手工单管式操作方案 ---------- 5

方案 2：血液/组织/细胞 DNA 手工 96 孔板操作方案 ---------- 7

方案 3：血液/组织/细胞 DNA 的移液工作站方案 ---------- 9

常见问题回答 ---------- 12

版本: 2017-09

简 介

MagPure Tissue&Blood DNA LQ Kit 为干血片、拭子、抗凝血液、血清、血浆、唾液、培养细胞、少量的动物组织和石蜡切片等生物样品 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。该方法纯化的 DNA 包括基因组 DNA，线粒体 DNA，病毒 DNA(如乙肝)，或其它寄生微生物的 DNA。得到的 DNA 可直接用于 PCR，芯片分析、二代测序、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。吸附了核酸的纳子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 LQ 系统采用的溶液体系和纯化方式是专门为移液工作站和手工提取而设计的。

MagPure Tissue&Blood 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。

保 质 期

MagPure Tissue&Blood DNA LQ Kit 除 MagBind Particles 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℃。低温下，Buffer ATL/Buffer AL 可能会有沉淀形成，需 55℃水浴让沉淀完全溶解。MagBind Particles 和 Proteinase K 干粉在室温下运输。收到试剂盒后，把 Proteinase K 保存于-20℃。MagBind Particles 保存于 2-8℃。

组 成

MagPure Tissue&Blood DNA LQ Kit

产品编号	D6312-01	D6312-02	D6312-03
纯化次数	48 次	96 次	5 x 96 次
MagBind Particles	1.1 ml	2 x 1.1 ml	11 ml
Buffer ATL	20 ml	35 ml	160 ml
Buffer AL	20 ml	35 ml	160 ml
Buffer BD*	5 ml	15 ml	50 ml
Proteinase K	24 mg	48 mg	240 mg
Protease Dissolve Buffer	1.8 ml	3 ml	15 ml
Buffer BW1*	44 ml	66 ml	2 x 110 ml
Elution Buffer	10 ml	30 ml	100 ml
说明书	1	1	1

准备工作

- 70%乙醇
- 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 18 个月，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 BW1 使用前，须按瓶子标签所示，加入无水乙醇进行稀释。
- Buffer BD 使用前，须按瓶子标签所示，加入无水乙醇进行稀释。
- MagBind Particles 初次使用时，必须剧烈摇晃 1 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 [高通量]

方案 1.单管式手工操作

该方案适合于从 200μl 抗凝血液、干血片、石蜡切片、拭子、培养细胞和微量动物组织样品中提取 DNA。

样品前处理：

A. **液体样品(血液、血清、血浆、细胞重悬液等样品)**

1. 在 1.5ml 离心管中，加入 20μl Proteinase K。
2. **转移 200μl 血液、血浆、血清、细胞重悬液(<10^6)或其它液体样品至装有蛋白酶 K/磁珠的离心管中。**振荡混匀 5 秒。
3. **加入 200μl Buffer AL，颠倒混匀 3 次，高速涡旋混匀 15 秒。**70℃ 水浴或振荡温育 10 分钟，按第 4 步进行操作。

B. 干血片（FTA Card 或其它干血片）

1. 用打孔器在 FTA Card 或干血片上打出 3~5 个 3mm 直径的血片，并转移 2.0ml 离心管中。加入 20μl Proteinase K 和 300μl Buffer ATL。55℃ 振荡温育 30~60 分钟。
2. 加入 100μl Buffer AL 至样品中，涡旋混匀。70℃ 高速振荡温育 10~15 分钟。
3. 短暂离心，转移所有的消化液至新的 1.5ml 离心管中，按第 4 步进行操作。

C. **动物组织(<10mg 动物组织)**

1. 把<10mg 动物组织样品转移至 1.5ml 离心管中。加入 20μl Proteinase K 和 200μl Buffer ATL。55℃ 振荡温育 30 分钟或直至样品完全消化。
2. 加入 200μl Buffer AL 至样品中，涡旋混匀 15 秒。
3. 70℃ 水浴 10 分钟，按第 4 步进行操作。

D. **石蜡切片组织**

1. 转移石蜡切片至 1.5ml 离心管中，用二甲苯或代替物脱除石蜡。
2. 加入 20μl Proteinase K 和 160μl Buffer ATL 至样品中。55℃ 温育 60 分钟。90℃ 温育 60 分钟。
3. 加入 160μl Buffer AL 至样品中，涡旋混匀 10 秒。按第 4 步进行操作。

E. **拭子样品**

1. 转移拭子至 2ml 离心管中。

2. **加入 300~350 µlBuffer ATL 和 20µl Proteinase K 至样品中。**颠倒或涡旋混匀。55℃水浴 15~30 分钟。

3. **短暂离心，转移 300µl 消化液和 100ul Buffer AL 至新的 1.5ml 离心管中。**，按第 4 步进行操作。

F. **保存的唾液样品**

1. 在 1.5ml 离心管中，加入 20µl Proteinase K。

2. **转移 300µl 唾液至装有蛋白酶 K 的离心管中。**振荡混匀 5 秒。55°C 水浴或振荡温育 30 分钟。

3. **加入 100µl Buffer AL**，按第 4 步进行操作。

纯化步骤

4. **加入 400µl Buffer BD 和 20µl MagBind Particle 至样品中。**颠倒混匀 20~30 次。室温静置 3 分钟，其间颠倒混匀数次。按第 5 步进行操作。

5. 转移至磁力架上吸附 5~6 分钟。倒弃或吸弃溶液

6. **加入 500µl Buffer BW1，涡旋 15 秒重悬磁珠。**

7. 转移至磁力架上吸附 3 分钟。倒弃或吸弃溶液。

8. 重复第 6~7 步一次。[处理石蜡组织、干血片、组织样品可以省略这一步]

9. **加入 500µl 75%乙醇，涡旋 15 秒重悬磁珠。**

10. 转移至磁力架上吸附 3 分钟。倒弃或吸弃溶液。

11. 重复第 9~10 步一次。

12. 短暂离心收集管壁上的液滴，转移至磁力架上吸附 1 分钟，吸弃所有溶液。打开管盖，空气干燥 10 分钟。

13. 加入 **15～100µl Elution Buffer，涡旋打散磁珠。**60°C 振荡温育 10 分钟。若无振荡温匀，在涡旋 1～2 次加速 DNA 的溶解。转移至磁力架上吸附 5 分钟，把 DNA 转移至新的离心管中。

方案 2. 96 孔板高通量手工提取

该方案适合于从 96 个血液、干血片、石蜡切片、培养细胞和组织样品中提取 DNA。

A. 全血/血浆/血清/细胞重悬液(<10^6)等

1. 在 96 孔深孔板中，每孔加入 20μl Proteinase K。
2. 转移 200μl 血液、血清、血浆、细胞重悬液或液体样品至深孔板中，**加入 200μl Buffer AL 至样品中。1,000~1,400rpm 振荡混匀 3 分钟。**
3. 60~65℃ 烘箱加热 30 分钟。按第 4 步进行操作。

B. 干血片（FTA Card 或其它干血片）

1. 用打孔器在 FTA Card 或干血片上打出 3~5 个 3mm 直径的血片，并转移至 96 孔板中。加入 20μl Proteinase K 和 300μl Buffer ATL，55℃ 振荡(1000~1400rpm) 温育 30 分钟。
2. 加入 100μl Buffer AL，70℃ 振荡(1000~1400rpm) 温育 15 分钟。
3. 转移所有上清液至深孔板中，按第 4 步进行操作。

C. 动物组织(<10mg 动物组织)

1. 把<10mg 组织转移至 96 深孔板中，每孔加入 20μl Proteinase K 和 200μl Buffer ATL。贴上封口膜，55℃ 温育 60 分钟或直至样品完全消化。
2. 短暂离心收集管壁上的液滴。加入 200μl Buffer AL 至样品中，1,000~1,200rpm 振荡（1000~1400rpm)混匀 2 分钟。
3. 70℃ 温育 10 分钟。按第 4 步进行操作。

D. 石蜡切片组织

1. 转移石蜡切片至 1.5ml 离心管中，用二甲苯或代替物脱除石蜡。
2. **加入 20μl Proteinase K 和 200μl Buffer ATL 至样品中。**55℃ 温育 60 分钟。90℃ 温育 60 分钟。转移消化液至 96 孔深孔板中。

3. **加入 200μl Buffer AL 至样品中，涡旋混匀 10 秒。**按第 4 步进行操作。

E. **拭子样品**

1. 转移拭子至 2ml 离心管中。**加入 300μlBuffer ATL 和 20μl Proteinase K 至样品中。**颠倒或涡旋混匀。55℃水浴 30 分钟。

2. 转移 300μl 消化液和 100ul Buffer AL 至 96 孔板中。按第 4 步进行操作。

F. **唾液样品**

1. 在 Nunc 96 孔深孔板中，每孔加入 20μl Proteinase K。

2. 转移 300μl 唾液至深孔板中，1,000~1,400rpm 振荡混匀 3 分钟。55°C 烘箱处理 30 分钟。

3. 加入 100ul Buffer AL 至样品中，按第 4 步进行操作。

纯化步骤

4. **加入 400μl Buffer BD 和 20μl MagBind Particle 至样品中。**700~1,000rpm 振荡混匀 6 分钟。【调整振荡速度让样品达到最佳的混匀效果，但不能让溶液溢出孔口，可用同体积的水进行测试】

5. **转移至 96 孔磁力架上吸附 10 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。【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】

6. **加入 500μl Buffer BW1 至孔中。**1,000~1,200rpm 振荡混匀 2 分钟打散磁珠。

7. 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。

8. 重复第 6~7 步一次。

9. **加入 500μl 75%乙醇。**1,000~1,200rpm 振荡混匀 2 分钟打散磁珠。

10. 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。

11. 重复第 10~11 步一次。让磁力架和 96 孔板反扣于吸水纸 5 分钟彻底吸弃残液。

12. 室温干燥 15 分钟。

13. **加入 50~100µl 预热至 70℃ 的** Elution Buffer，1,000~1,400rpm 振荡混匀 10 分钟。

14. 转移至磁力架上吸附 3 分钟，把 DNA 转移至新的 96 孔板中。

方案 3. 移液工作站流程设计

该方案适合于从抗凝血液、石蜡切片、干血片、培养细胞和组织样品中提取 DNA。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 移液工作站而设计的。

A. **全血/血浆/血清/细胞重悬液(<10^6)等**

1. 在 2.2ml 96 孔 Nunc 深孔板中，加入 20μl Proteinase K 和 20μl MagBind Particles。
2. **转移 200μl 血液、血清、血浆、细胞重悬液或液体样品至装有裂解液的孔中。** 1,000~1,400rpm 振荡混匀 15 秒。
3. **加入 200μl Buffer AL 至样品中。**1,000~1,400rpm 振荡混匀 2 分钟。
4. 65~70℃ 振荡（1,000~1,400rpm）温育 10~13 分钟。
5. **加入 400μl Buffer BD 至样品中。**7,00~1,000rpm 振荡混匀 5 分钟。**【**调整振荡速度让样品达到最佳的混匀效果，但不能让溶液溢出孔口，可用同体积的水进行测试**】**
6. 按第 7 步进行操作。

B. 干血片（FTA Card 或其它干血片）

1. [手工]用打孔器在 FTA Card 或干血片上打出 3~5 个 3mm 直径的血片，并转移至 96 孔板中。
2. 加入 20μl Proteinase K 和 300μl Buffer ATL。55℃ 振荡温育 20 分钟。
3. 加入 100μl Buffer AL 至样品中。65~70℃ 振荡（1,000~1,400rpm）温育 15 分钟。
4. 用移液枪把所有消化转移至 Nunc 96 孔深孔板中，去除滤纸片。转移 96 孔板至仪器中。
5. [机器]**加入 20μl MagBind Particles 和 400μl Buffer BD 至样品中。**700~1,000rpm 振荡混匀 5 分钟。**【**调整振荡速度让样品达到最佳的混匀效果，但不能让溶液溢出孔口，可用同体积的水进行测试**】**
6. 按第 7 步进行操作。

C. **动物组织(<10mg 动物组织)**

1. [手工]把动物组织样品转移至 2.2ml 96 孔 Nunc 深孔板中。加入 20μl Proteinase K 和 200μl Buffer ATL，贴上封口膜。55°C 振荡温育 30 分钟或直至样品完全消化。

2. [手工]短暂离心收集孔壁上的液滴，小心去除封口膜。

3. 转移 96 孔板至移液工作站中。

4. [机器]加入 200μl Buffer AL 至样品中,70°C 振荡(1400rpm)温育 13 分钟。

5. [机器]**加入 20μl MagBind Particles 和 400μl Buffer BD 至样品中。**1,000~1,400rpm 振荡混匀 5 分钟。【调整振荡速度让样品达到最佳的混匀效果，但不能让溶液溢出孔口，可用同体积的水进行测试】

6. 第按 7 步进行操作。

D. 石蜡切片组织

1. [手工]转移石蜡切片至 1.5ml 离心管中，用二甲苯或代替物脱除石蜡。

2. [手工]加入 15μl Proteinase K(II)和 200μl Buffer ATL 至样品中。55°C 温育 60 分钟。90°C 温育 60 分钟。

3. [机器]把 1.5ml 离心管转移至仪器中，并把消化液转移至 2.2ml 96 孔 Nunc 深孔板中。

4. [机器]加入 200μl Buffer AL 至样品中，1,000~1,200rpm 振荡混匀 1 分钟。

5. [机器]**加入 20μl MagBind Particles 和 400μl Buffer BD 至样品中。**1,000~1,400rpm 振荡混匀 5 分钟。【调整振荡速度让样品达到最佳的混匀效果，但不能让溶液溢出孔口，可用同体积的水进行测试】

6. 第按 7 步进行操作。

E. **拭子样品**

1. [手工]转移拭子至 2ml 离心管中。**加入 300~350μlBuffer ATL 和 20μl Proteinase K 至样品中。**颠倒或涡旋混匀。55℃水浴 15~30 分钟。

2. [手工]短暂离心，转移 300μl 消化液至 Nunc 96 孔板中。

3. [机器]**加入 100ul Buffer AL 和 400μl Buffer BD 和 20μl MagBind Particle 至样品中。**1,000~1,400rpm 振荡混匀 5 分钟。【调整振荡速度让样品达到最佳的混匀效果，但不能让溶液溢出孔口，可用同体积的水进行测试】。按第 7 步进行操作。

F. **唾液样品**

1. 在 Nunc 96 孔深孔板中，每孔加入 20μl Proteinase K 和 20μl MagBind Particles。
2. 转移 200μl 唾液或液体样品至深孔板中。
3. 加入 200μl Buffer AL 至样品中， 65℃ 振荡温育 15 分钟。
4. 加入 400μl Buffer BD 至样品中。1,000~1,200rpm 振荡混匀 5 分钟。【调整振荡速度让样品达到最佳的混匀效果，但不能让溶液溢出孔口，可用同体积的水进行测试】
5. 按第 7 步进行操作。

纯化步骤

7. 转移至 96 孔磁力架上吸附 10 分钟。吸弃溶液。
8. **加入 500μl Buffer BW1，**1,000~1,400rpm 振荡混匀 2 分钟打散磁珠。
9. 转移至磁力架上吸附 3 分钟。吸弃溶液。
10. 重复第 8~9 步一次。[处理石蜡组织、干血片、组织样品可以省略这一步]
11. **加入 500μl 75%乙醇，**1,000~1,400rpm 振荡混匀 2 分钟打散磁珠。转移至磁力架上吸附 3 分钟。吸弃溶液。
12. **再加入 500μl 75%乙醇，**1,000~1,400rpm 振荡混匀 2 分钟打散磁珠。转移至磁力架上吸附 3 分钟。吸弃溶液。
13. 缓慢吸弃溶液，确保彻底吸弃残液。空气干燥 10 分钟。
14. 加入 **50~150μl Elution Buffer，** 60℃ 振荡（1,000rpm,）温育 6~10 分钟。
15. 转移至磁力架上吸附 3 分钟，把 DNA 转移至新的 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 的技术人员也可以随时为您提供服务，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扰难解。

现 象 及 原 因	解 决 方 法
DNA 有颜色	
Proteinase K 与 Buffer AL 不能预先混合	Proteinase K 与 Buffer BL 不能预先混合。样品与蛋白酶 K 先进行混匀后，才能加入 Buffer BL。
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 BD 没有加入乙醇稀释	按说明书或瓶子标签所示，加入正确的乙醇。
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 BW1 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 没有充分打散	初步使用 MagPure Particles 时，必须充分剧烈振荡 1-2 分钟以打散 MagPure Particles。
洗脱体积不够	增加洗脱体积以提高洗脱效率