

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: 石蜡包埋组织 DNA 手工单管式操作方案	5
方案 2: 石蜡包埋组织 DNA 手工 96 孔板操作方案	7
方案 3: 石蜡包埋组织 DNA 的移液工作站方案	9
常见问题回答	12

版本: 2018-01

简介

MagPure FFPE DNA LQ Kit 为石蜡包埋组织样品 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，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。吸附了核酸的磁性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 FFPE 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 FFPE DNA LQ Kit

产品编号	D6323-01	D6323-02
纯化次数	48 次	96 次
MagPure Particles G	1.8 ml	3.5 ml
Deparaffinization Solution	50 ml	100 ml
Buffer ATL	20 ml	40 ml
Buffer MLE*	18 ml	36 ml
Proteinase K	24 mg	48 mg
Protease Dissolve Buffer	1.8 ml	5 ml
Buffer GW1*	22 ml	52 ml
Buffer GW2*	20 ml	50 ml
Elution Buffer	10 ml	30 ml
说明书	1	1

保 质 期

MagPure FFPE 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。长期保存时需置于 2-8℃。低温下，Buffer ATL 可能会有沉淀形成，需 55℃水浴让沉淀完全溶解。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 GW1 使用前, 须按瓶子标签所示, 加入无水乙醇进行稀释。
- Buffer GW2 使用前, 须按瓶子标签所示, 加入无水乙醇进行稀释。
- Buffer MLE 使用前, 须按瓶子标签所示, 加入异丙醇进行稀释。
- 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 [高通量]

方案 1. 石蜡包埋组织 DNA 手工单管式操作

该方案适合于从石蜡切片组织样品中提取 DNA。

1. 用手术剪刀和镊子去除石蜡包埋组织中的多余的石蜡。
2. 用切片机切出 1~3 片 10 μ m 的切片，并转移至 1.5ml 离心管中。加入 800 μ l Deparaffinization Solution 至样品中，涡旋混匀 5 秒。
3. 56 $^{\circ}$ C 水浴 5 分钟。涡旋混匀 15 秒。
4. **加入 20 μ l Proteinase K 和 200 μ l Buffer ATL 至样品中。** 涡旋混匀 5 秒。
5. 短暂离心收集管壁上的液滴。56 $^{\circ}$ C 温育 60~180 分钟。90 $^{\circ}$ C 温育 60 分钟。
6. 短暂离心收集管壁上的液滴。转移下层消化液到新的离心管中。
7. **加入 400 μ l Buffer MLE 和 30 μ l MagPure Particles G 至样品中。** 涡旋混匀 15 秒。室温静置 3 分钟，其间颠倒混匀数次。
8. 转移至磁力架上吸附 2~3 分钟。倒弃或吸弃溶液。
9. **加入 500 μ l Buffer GW1，涡旋 15 秒重悬磁珠。** 转移至磁力架上吸附 2~3 分钟。倒弃或吸弃溶液。
10. **加入 500 μ l Buffer GW1，涡旋 15 秒重悬磁珠。** 转移至磁力架上吸附 2~3 分钟。倒弃或吸弃溶液。
11. **加入 500 μ l Buffer GW2，涡旋 15 秒重悬磁珠。**
12. 转移至磁力架上吸附 2~3 分钟。倒弃或吸弃溶液。
13. 重复第 11~12 步一次。
14. 短暂离心，转移至磁力架上吸附 1 分钟，吸弃所有溶液。
15. 打开管盖，空气干燥 10 分钟。
16. 加入 30~50 μ l Elution Buffer，**涡旋打散磁珠。** 55 $^{\circ}$ C 振荡温育 5~10 分钟。
17. 转移至磁力架上吸附 2~3 分钟，把 DNA 转移至新的离心管中。

方案 2. 石蜡包埋组织 DNA 手工高通量提取

该方案适合于从 96 个石蜡切片组织样品中提取 DNA。

1. 用手术剪刀和镊子去除石蜡包埋组织中的多余的石蜡。用切片机切出 1~3 片 10 μ m 的切片，转移至 96 孔板。**每孔加入 600 μ l Deparaffinization Solution 至样品中，1200rpm 振荡混匀 30 秒。**
2. 短暂离心收集管壁上的液滴。56 $^{\circ}$ C 水浴 5 分钟。1200rpm 振荡混匀 60 秒。
3. **每孔加入 20 μ l Proteinase K 和 230 μ l Buffer ATL 至样品中。**1200rpm 振荡混匀 20 秒。
4. 短暂离心收集管壁上的液滴。56 $^{\circ}$ C 温育 60~180 分钟。90 $^{\circ}$ C 温育 60 分钟。
5. 用 8 通移液枪缓慢插到 96 孔板底部，转移 200 μ l 消化液至 Nunc 96 孔深孔板中。
6. **加入 25 μ l MagPure Particles G 和 400 μ l Buffer MLE 至样品中。**1,000~1,200rpm 振荡混匀 5 分钟。
8. **转移至 96 孔磁力架上吸附 3~5 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】**
9. **加入 500 μ l Buffer GW1 至孔中。**1,000~1,200rpm 振荡混匀 1 分钟。
10. 转移至磁力架上吸附 2~3 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 9~10 步一次。
12. **加入 500 μ l Buffer GW2 至孔中。**1,000~1,200rpm 振荡混匀 1 分钟。
13. 转移至磁力架上吸附 2~3 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。
14. 重复第 12~13 步一次。让磁力架和 96 孔板反扣于吸水纸 3~5 分钟彻底吸弃残液。
15. 37~50 $^{\circ}$ C 干燥 10~15 分钟。
16. **加入 30~60 μ l 预热至 55 $^{\circ}$ C 的 Elution Buffer，**1,000rpm 振荡混匀 10 分钟。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

该方案适合于从石蜡切片样品中提取 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。

1. [手工]用手术剪刀和镊子去除石埋包埋组织中的多余的石蜡。用切片机切出 1~3 片 10 μ m 的切片，转移至 96 孔板。
2. **每孔加入 600 μ l Deparaffinization Solution 至样品中，1200rpm 振荡混匀 60 秒。**
3. [手工]短暂离心收集管壁上的液滴。56 $^{\circ}$ C 水浴 5 分钟。1200rpm 振荡混匀 60 秒。
4. [手工]每孔加入 20 μ l Proteinase K 和 200 μ l Buffer ATL 至样品中。1200rpm 振荡混匀 20 秒。
5. [手工]短暂离心收集管壁上液滴。56 $^{\circ}$ C 温育 60~180 分钟。90 $^{\circ}$ C 温育 60 分钟。
6. 短暂离心收集管壁上的液滴。转移 96 孔板至仪器中。
7. 让移液枪缓慢插到 96 孔板底部，转移 200 μ l 消化液至 Nunc 96 孔深孔板中。
8. **加入 25 μ l MagPure Particles G 和 400 μ l Buffer MLE 至样品中。1,000~1,200rpm 振荡混匀 3~5 分钟。**
9. 转移至 96 孔磁力架上吸附 10 分钟。吸弃溶液。
10. **加入 500 μ l Buffer GW1，1,000~1,400rpm 振荡混匀 1 分钟打散磁珠。转移至磁力架上吸附 3 分钟。吸弃溶液。**
11. 重复第 9~10 步一次。
12. **加入 500 μ l Buffer GW2，1,000~1,400rpm 振荡混匀 1 分钟打散磁珠。**
13. 转移至磁力架上吸附 3 分钟。吸弃溶液。
14. **再加入 500 μ l Buffer GW2，1,000~1,400rpm 振荡混匀 1 分钟打散磁珠。**
15. 转移至磁力架上吸附 3 分钟。缓慢吸弃溶液，确保彻底吸弃残液。
16. 50 $^{\circ}$ C 干燥 10 分钟去除乙醇。
17. **加入 50 μ l Elution Buffer，55 $^{\circ}$ C 振荡 (1,000rpm,) 温育 3~10 分钟。**
18. 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忧解难。

现象	原因及解决方法
DNA 纯化度	
样品消化不充分	延长 Proteinase K 消化时间，提高样品的消化效果。
样品起始用量太多	减少样品用量。正确的用量是获得理想结果的必要条件。
Proteinase K 活性下降	重新制备 Proteinase K。使用后 Proteinase K 必须立即保存于-20℃。分装保存 Proteinase K，避免反复冻融。
DNA 产量低	
洗脱效率不够	洗脱时 Buffer AE 加到膜中央。增加 Buffer AE 的洗脱体积。增加 Buffer AE 洗脱体积的次数。
Buffer GW1 和 Buffer GW2 中乙醇没有加入或加入量不够	按说明书或瓶子标签所示，加入正确量的乙醇。
柱子没有空甩	柱子必须空甩 3 分钟以去除膜上残留的乙醇。
样品消化不充分	延长 Proteinase K 消化时间，采用液氮或玻璃匀浆器对样品进行研磨和匀浆，提高样品的消化效果。
RNA 污染	
加入 RNASE 消化	若需去除 RNA，蛋白酶消化后，可加入 2 μ l RNase A (50mg/ml)至样品中，室温静置 15 分钟消化 RNA。
下游实验结果不理想	
盐分污染	加入 Buffer GW2 后，静置 5 分钟后，再离心。