

目 录

简介----- 2

原 理----- 2

试剂盒组成----- 3

保质期----- 2

准备工作----- 3

方案 1：500µl 游离 DNA 的手工富集方案----- 4

方案 2：2.0ml 游离 DNA 的手工富集方案----- 5

方案 3：4.0ml 游离 DNA 的手工富集方案----- 5

方案 4：1.0ml 游离 DNA 的机提富集方案----- 6

方案 5：2.0ml 游离 DNA 的机提富集提方案----- 7

方案 5：4.0ml 游离 DNA 的机提富集提方案----- 8

版本: 2025-05

简介

MagPure CFDNA Rich LQ Kit 为血清、血浆等无细胞液体样品的游离 DNA(>100bp)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 CFDNA RICH 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(Elution Buffer)洗脱。洗脱的 DNA 可直接用于 PCR、病毒检测等实验。

保质期

MagPure CFDNA Rich LQ Kit 除 MagPure Particles G2 和 Proteinase K 外,可在室温下(15-25℃)干燥保存 18 个月。MagPure Particle G2 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 Particle G2 保存于 2-8℃。

组 成

MagPure CFDNA Rich LQ Kit B

产品编号	D6334-01B	D6334-02B	D6334-03B
纯化次数(0.5 ml)	48 次	96 次	480 次
MagPure Particles G2	1.2 ml	2.5 ml	11 ml
MagBind Particles	1.6 ml	3.5 ml	16 ml
Buffer SDS	1.5 ml	3 ml	16 ml
Proteinase K	30 mg	60 mg	280 mg
Protease Dissolve Buffer	1.8 ml	5 ml	15 ml
Buffer MLB	50 ml	100 ml	480 ml
Buffer MW1 *	13 ml	44 ml	220 ml
Buffer MW2*	10 ml	20 ml	100 ml
Elution Buffer	10 ml	10 ml	30 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。

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/MW2 使用前, 须按瓶子标签所示, 加入无水乙醇进行稀释。
- MagPure Particle G2 初次使用时, 必须剧烈摇晃 1~2 分钟让磁珠充分分散。

方案 1. 500 μ l 游离 DNA 富集提取方案

1. 在 2.0 ml 离心管中，加入 25 μ l Proteinase K、500 μ l 血清或血浆样品混匀。
2. （可选）加入 25 μ l Buffer SDS，颠倒混匀，55 度温育 30 分钟。
3. 加入 800 μ l Buffer MLB 和 30 μ l 磁珠液 MB，室温颠倒混匀 15 分钟，磁力架静置 5 分钟或 10000 $\times$ g 离心 2 分钟去除磁珠，转移上清液(含小片段 DNA)至新的离心管中。
4. 加入 20 μ l 磁珠液 MPG2 至上清液，室温颠倒混匀 8 分钟。转移至磁力架上，静置 1 分钟吸附磁珠，小心吸弃所有溶液。
5. 加入 500 μ l Buffer MW1，混匀 10 秒。磁力架静置 1 分钟，小心吸弃所有溶液。
6. 加入 500 μ l Buffer MW2，混匀 10 秒。磁力架静置 1 分钟，小心吸弃所有溶液。
7. 加入 500 μ l Buffer MW2，混匀 10 秒。磁力架静置 1 分钟，小心吸弃所有溶液。
8. 短暂离心，吸弃所有溶液，空气干燥 10 分钟。
9. 加 50 μ l Elution Buffer，室温振荡温育 5~10 分钟溶解 DNA。
10. 转移至磁力架静置 1 分钟，转移 DNA 溶液至新的 1.5ml 离心管中。

方案 2. 2ml 游离 DNA 富集提取方案

1. 在 10ml 离心管中，加入 100 μ l Proteinase K 和 2ml 血清或血浆样品，混匀。
2. （可选）加入 100 μ l Buffer SDS，颠倒混匀，55 度温育 30 分钟。
3. 加入 3.3ml Buffer MLB 和 120 μ l 磁珠液 MB，室温颠倒混匀 20 分钟，磁力架静置 5 分钟或 5000 rpm 离心 10 分钟去除磁珠，转移上清液(含小片段 DNA)至新的离心管中。
4. 加入 80 μ l 磁珠液 MPG2 至上清液，室温颠倒混匀 10 分钟。磁力架静置 3 分钟吸附磁珠，小心吸弃所有溶液。
5. 加入 1.5 ml Buffer MW1，混匀 10 秒，磁力架静置 1 分钟，小心吸弃所有溶液。
6. 加入 1.5 ml Buffer MW1，混匀 10 秒，磁力架静置 1 分钟，小心吸弃所有溶液。
7. 加入 1.5 ml Buffer MW2，混匀 10 秒，磁力架静置 1 分钟，小心吸弃所有溶液。

8. 加入 1.5 ml Buffer MW2, 混匀 10 秒, 磁力架静置 1 分钟, 小心吸弃所有溶液。
9. 短暂离心, 小心吸弃所有溶液, 55 度烘干 10 分钟。
10. 加 60~75µl Elution Buffer, 室温振荡温育 5~10 分钟溶解 DNA。
11. 瞬离后磁力架静置 3 分钟, 转移 DNA 溶液至新的 1.5ml 离心管中。

方案 3. 4ml 游离 DNA 富集提取方案

1. 在 15ml 离心管中, 加入 200µl Proteinase K 和 4ml 血清或血浆样品,混匀。
2. (可选) 加入 200µl Buffer SDS, 颠倒混匀, 55 度温育 30 分钟。
3. 加入 6.6ml Buffer MLB 和 240µl 磁珠液 MB, 室温颠倒混匀 20 分钟, 磁力架静置 5 分钟或 5000 rpm 离心 10 分钟去除磁珠。
4. 转移一半体积上清液的至 10ml 离心管中, 加入 120µl 磁珠液 MPG2, 室温颠倒混匀 10 分钟。瞬离后磁力架静置 3 分钟吸附磁珠, 小心吸弃所有溶液。
5. 把余下的上清液再转移至含磁珠的离心管中, 涡旋重悬磁珠。室温颠倒混匀 10 分钟。瞬离后磁力架静置 3 分钟吸附磁珠, 小心吸弃所有溶液。
6. 加入 1.5ml Buffer MAW1, 混匀 10 秒。磁力架静置 1 分钟, 小心吸弃所有溶液。
7. 加入 1.5ml Buffer MAW1, 混匀 10 秒。磁力架静置 1 分钟, 小心吸弃所有溶液。
8. 加入 1.5 ml Buffer MW2, 混匀 10 秒。磁力架静置 1 分钟, 小心吸弃所有溶液。
9. 加入 1.5 ml Buffer MW2, 混匀 10 秒。磁力架静置 1 分钟, 小心吸弃所有溶液。
10. 短暂离心, 小心吸弃所有溶液,, 55 度烘干 10 分钟。
11. 加 70~80µl 预热的 Elution Buffer,, 室温振荡温育 5~10 分钟溶解 DNA。
12. 瞬离后磁力架静置 3 分钟, 转移 DNA 溶液至新的 1.5ml 离心管中。

方案 4：32/48 通道核酸提取仪操作(1ml)

1. 按下表把洗涤液/样品等加到深孔板对应的孔中，把磁力外套和 96 孔板放到仪器中。

孔位	样品量	使用前加入
第1/7排孔	消化后上机(Streck保存管): 1ml 血浆或血清, 加入50ul Proteinase K和50ul SDS, 颠倒混匀, 55度温育30分钟, 加入1700ul Buffer MLB和60ul磁珠液 MLB, 颠倒混匀, 分装950ul混匀液至孔1, 2和3中。	直接上机: 每孔加入333 μl 血浆/血清, 20 μl Proteinase K, 20μl 磁珠液 MB和560μl Buffer MLB。
第2/8排孔		
第3/9排孔		
第4/10排孔	900 μl 洗涤液MW1	
第5/11排孔	900 μl 洗涤液 MW2&30μl 磁珠液 MPG2	
第6/12排孔	70 μl 洗脱液EB	

2. 启动程序，约 40 分钟后暂结束。
3. 取出 96 孔板和磁力外套。把 DNA 转移至 1.5ml 离心管中，把产物保存于-20~-8℃。

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	消化1	1	850	3	7	0	0	0	0	0	自动	1,2	45
2	消化2	2	850	3	7	0	0	0	0	0	自动	1,2	45
3	消化3	3	850	5	6	0	0	0	0	0	自动	1,2	45
4	消化1	1	850	5	6	0	0	0	0	0	自动	1,2	45
5	消化2	2	850	5	6	0	0	0	0	0	自动	1,2	45
6	消化3	3	850	5	6	0	0	0	0	0	自动	/	/
7	吸磁1	1	850	0	6	0	0	180	20	20	自动	/	/
8	吸磁2	2	850	0	6	0	0	180	20	20	自动	/	/
9	吸磁3	3	850	0	6	0	0	180	20	20	自动	/	/
10	弃磁	4	900	2	7	0	0	0	0	0	自动	/	/
11	吸磁	5	900	0.5	8	0	0	100	0	0	自动	/	/
12	结合	1	900	7	7	0	0	120	20	20	自动	/	/
13	结合	2	900	7	7	0	0	120	20	20	自动	/	/
14	结合	3	900	5	7	0	0	0	0	0	自动	/	/
15	吸磁	4	900	0.5	7	0	0	180	0	0	自动	/	/
16	弃磁	1	900	2	7	0	0	0	0	0	自动	/	/
17	吸磁	3	900	2	7	0	0	120	20	20	自动	/	/
18	清洗1	4	900	3	7	0	0	100	0	0	自动	/	/
19	清洗2	5	900	3	7	0	0	100	0	0	自动	/	/
20	干燥	6	100	0	0	8min 晾干		0	0	0	自动	/	/
21	洗脱	6	100	6	9	0	0	60s	0	40	自动	/	/
22	弃磁	4	500	0.5	9	0	0	0	0	0	自动	/	/

案 5：32C 通道核酸提取仪操作(2ml)

1. 按下表把洗涤液/样品等加到深孔板对应的孔中，把磁力外套和 48 圆孔板放到仪器中。

孔位	样品量	使用前加入
第1/7排孔	消化后上机（Streck保存管）：2ml 血浆或血清，加入100ul Proteinase K和100ul SDS，颠倒混匀，55度温育30分钟，加入3000ul Buffer MLB和120ul 磁珠液MLB，颠倒混匀，分装1750ul混匀液至孔1，2和3中。	直接上机：每孔加入666 μl血浆/血清，33 μl Proteinase K, 40μl 磁珠液MB和1000ul Buffer MLB。
第2/8排孔		
第3/9排孔		
第4/10排孔	1600 μl 洗涤液MW1	
第5/11排孔	1600 μl 洗涤液 MW2&60ul 磁珠液 MPG2	
第6/12排孔	80 μl 洗脱液EB	

2. 启动程序，约 40 分钟后暂结束。
3. 取出 96 孔板和磁力外套。把 DNA 转移至 1.5ml 离心管中，把产物保存于-20~-8℃。

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	消化1	1	1700	3	7	0	0	0	0	0	自动	/	/
2	消化2	2	1700	3	7	0	0	0	0	0	自动	/	/
3	消化3	3	1700	5	6	0	0	0	0	0	自动	/	/
4	消化1	1	1700	5	6	0	0	0	0	0	自动	/	/
5	消化2	2	1700	5	6	0	0	0	0	0	自动	/	/
6	消化3	3	1700	5	6	0	0	0	0	0	自动	/	/
7	吸磁1	1	1700	0	6	0	0	240	0	0	自动	/	/
8	吸磁2	2	1700	0	6	0	0	240	0	0	自动	/	/
9	吸磁3	3	1700	0	6	0	0	240	0	0	自动	/	/
10	弃磁	4	1500	3	7	0	0	0	0	0	自动	/	/
11	吸磁	5	1500	1	7	0	0	150	0	0	自动	/	/
12	结合	1	1700	7	7	0	0	180	0	0	自动	/	/
13	结合	2	1700	7	7	0	0	180	0	0	自动	/	/
14	结合	3	1700	7	7	0	0	0	0	0	自动	/	/
15	吸磁	4	1500	0.5	7	0	0	240	0	0	自动	/	/
16	弃磁	1	1700	3	7	0	0	0	0	0	自动	/	/
17	吸磁	3	1700	2	7	0	0	180	0	0	自动	/	/
18	清洗1	4	1500	3	7	0	0	180	0	0	自动	/	/
19	清洗2	5	1500	3	7	0	0	180	0	0	自动	/	/
20	干燥	6	100	0	0	10min晾干		0	0	0	自动	/	/
21	洗脱	6	100	6	9	0	0	60s	0	40	自动	/	/
22	弃磁	4	500	0.5	9	0	0	0	0	0	自动	/	/

方案 6：4 通道或 24 通道核酸提取仪操作(4000µl)

1. 按下表把洗涤液/样品等加到深孔板对应的孔中，把磁力外套和 24 孔板放到仪器中。

孔位	样品量	使用前加入
第1/7排孔	消化后上机 (Streck保存管): 4ml 血浆或血清, 加入 200ul Proteinase K 和 200ul SDS, 颠倒混匀, 55度温育30分钟, 加入 7000ul Buffer MLB 和 240ul 磁珠液 MLB, 颠倒混匀, 分装 3800ul 混匀液至孔1, 2和3中。	直接上机: 每孔加入 1333µl 血浆/血清, 66 µl Proteinase K, 80µl 磁珠液 MB 和 2200µl Buffer MLB。
第2/8排孔		
第3/9排孔		
第4/10排孔	4000 µl 洗涤液 MW1	
第5/11排孔	4000 µl 洗涤液 MW2&120µl 磁珠液 MPG2	
第6/12排孔	90 µl 洗脱液 EB	

2. 启动程序, 约 90 分钟后暂结束。取出 96 孔板和磁力外套。把 DNA 转移至 1.5ml 离心管中, 把产物保存于 -20~8℃。

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	消化1	1	3500	3	6	0	0	0	0	0	自动	123	50
2	消化2	2	3500	3	6	0	0	0	0	0	自动	123	50
3	消化3	3	3500	5	6	0	0	0	0	0	自动	123	50
4	消化1	1	3500	5	5	0	0	0	0	0	自动	123	50
5	消化2	2	3500	5	5	0	0	0	0	0	自动	123	50
6	消化3	3	3500	5	5	0	0	0	0	0	自动	/	/
7	吸磁1	1	3500	0	6	0	0	360	0	0	自动	/	/
8	吸磁2	2	3500	0	6	0	0	360	0	0	自动	/	/
9	吸磁3	3	3500	0	6	0	0	360	0	0	自动	/	/
10	弃磁	4	3500	3	7	0	0	0	0	0	自动	/	/
11	吸磁	5	1500	0.5	8	0	0	180	0	0	自动	/	/
12	结合	1	3500	7	7	0	0	250	0	0	自动	/	/
13	结合	2	3500	7	7	0	0	250	0	0	自动	/	/
14	结合	3	3500	7	7	0	0	0	0	0	自动	/	/
15	吸磁	4	3500	0.5	7	0	0	360	0	0	自动	/	/
16	弃磁	1	3500	3	7	0	0	0	0	0	自动	/	/
17	吸磁	3	3500	2	7	0	0	250	0	0	自动	/	/
18	清洗1	4	3500	3	7	0	0	50	200	0	自动	/	/
19	清洗2	5	3500	3	7	0	0	50	200	0	自动	/	/
20	干燥	6	100	0	0	8min晾干		0	0	0	自动	/	/
21	洗脱	6	100	6	9	0	0	60s	0	40	自动	/	/
22	弃磁	4	500	0.5	9	0	0	0	0	0	自动	/	/