

MagPure Universal HW DNA Kit
磁珠法通用 DNA 提取试剂盒

本产品为动物组织和培养细胞、脱落细胞等生物样品的高分子量 DNA 提取提供了一个简单快速的解决方案。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 ADNA 可直接用于 PCR，芯片分析、二代测序、病毒 DNA 检测等实验。

产 品 组 份

产品编号	D6381-01	D6381-02	D6381-03
纯化次数（小提）	48 次	96 次	480 次
磁珠 MP	1.5 ml	3.0 ml	15 ml
Buffer ATL Minus	20 ml	40 ml	180 ml
Buffer SDS	1.5 ml	4 ml	20 ml
Buffer AL	15 ml	30 ml	150 ml
Buffer BD	6 ml	12 ml	100 ml
RNase Solution	0.6 ml	1.2 ml	5.0 ml
Proteinase K Solution	1.5 ml	3.0 ml	14 ml
Buffer GW1 *	44 ml	88 ml	2 x 220 ml
Buffer GW2	20 ml	50 ml	2 x 100 ml
Buffer GW3	50 ml	90 ml	450 ml
Elution Buffer	10 ml	20 ml	60 ml

保 存 条 件

本产品室温运输，长期保存时，把 Proteinase K, RNase Solution 和 MagPure Particles MP 保存于 2-8℃，其余产品保存于室温，有效期 18 个月。

准备事项

- Buffer GW1/GW2 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。

第一部分：组织、细胞、全血的小量提取

1. 根据样品类型，对样品进行消化处理。

- **动物组织**：取 10~30mg 组织类样品至玻璃匀浆器，加入 0.3ml Buffer ATL Minus，缓慢上下挤压 5 次匀浆样品，转移 0.25ml 匀浆液至 1.5ml 离心管中，加入 25 μ l Proteinase K 和 18 μ l Buffer SDS，颠倒混匀数次，55 $^{\circ}$ C 温育 30~120 分钟或直至样品完全消化。若存在明显未消化的杂质，10,000 $\times$ g 离心 3 分钟，转移 0.25ml 上清液至新的离心管中。
- **培养细胞或脱落细胞(<5 $\times$ 10⁶个细胞)**：取适量培养液、尿液或腹水等液体样品至离心管中，500 $\times$ g 离心 10 分钟收集细胞，去除上清液。加入 220 μ l Buffer ATL Minus，涡旋重悬细胞，加入 25 μ l 蛋白酶 K 和 10 μ l Buffer SDS，颠倒混匀数次，55 $^{\circ}$ C 温育 30~60 分钟。
- **血液或体液体样品**：取 250 μ l 全血、白膜层、淋巴细胞悬液、拭子浸泡液、组织匀浆液等液体样品至离心管中，加入 25 μ l 蛋白酶 K 和 18 μ l Buffer SDS，颠倒混匀数次，室温放置 15 分钟。
- **发酵液或培养液（阴性细菌）**：转移 1.0~2.0ml 细菌培、拭子浸泡液、组织匀浆液、体液等(<2 $\times$ 10⁹ 个细菌)至 2.0ml 离心管中，10,000 $\times$ g 离心 3 分钟收集细菌，倒弃培养液。加入 220 μ l Buffer ATL Minus 涡旋重悬细菌，加入 15 μ l Buffer SDS 和 15 μ l Proteinase K 混匀，65 $^{\circ}$ C 温育 20 分钟。

2. 加入 10 μ l RNase Solution 至消化液中，混匀，室温放置 10-30 分钟。

富含 RNA 有肝脏、肾脏或培养细胞，建议室温放置 30 分钟。

3. 加入 250 μ l 变性液 AL，颠倒混匀 10 次，55 $^{\circ}$ C 温育 10 分钟，其间颠倒混匀数次。

粘稠样品，涡旋混匀 10 秒形成均匀的溶液。

4. 加入 25 μ l 磁珠液 MP 和 500 μ l Buffer BD，颠倒混匀 15~30 次让 DNA 和磁珠充分结合在一起，磁力架静置 1 分钟，倒弃或吸弃溶液。

5. 加入 750 μ l Buffer GW1，涡旋混匀 10 秒，磁力架上静置 1 分钟，倒弃或吸弃溶液。

6. 加入 750 μ l Buffer GW1，涡旋混匀 10 秒，磁力架上静置 1 分钟，倒弃或吸弃溶液。

7. 加入 750 μ l Buffer GW2，涡旋混匀 10 秒，磁力架上静置 1 分钟，倒弃或吸弃溶液。

8. 加入 750 μ l Buffer GW2，涡旋混匀 10 秒，磁力架上静置 1 分钟，倒弃或吸弃溶液。

9. 不要从磁力架上取下离心管中，缓慢加入 750µl Buffer GW3，不要打散磁珠，静置 60 秒，小心吸弃溶液。
10. 加入 100µl Elution Buffer，轻轻拍打让磁珠从壁上脱落并重悬于 Elution Buffer，55° C，600~800rpm 振荡温育 10 分钟。磁力架上吸附 2 分钟，把 DNA 转移至新的离心管中。

第二部分. 中 量 提 取

1. 根据样品类型，对样品进行消化处理。
 - **动物组织中提：**取 50~100mg 动物组织样品至玻璃匀浆器中，加入 1.2ml Buffer ATL Minus，缓慢上下挤压 5 次匀浆组织，转移 1.0ml 匀浆液至 5.0ml 离心管中，加入 100µl Proteinase K 和 70µl Buffer SDS，颠倒混匀数次，55°C 温育 30~60 分钟或直至样品完全消化，10,000 x g 离心 3 分钟，转移 1ml 上清液至新的离心管中。
 - **培养细胞(<1 x 10⁸ 个细胞)：**取适量培养液、尿液、羊水或腹水等液体样品至离心管中，500 x g 离心 10 分钟收集细胞，去除上清液。加入 1000µl Buffer ATL Minus，涡旋重悬细胞，加入 100µl 蛋白酶 K 和 50µl Buffer SDS，颠倒混匀数次，55°C 温育 30~60 分钟。
 - **液体样品(1ml)：**取 1000ul 全血、白膜层、拭子浸泡液、组织匀浆液至离心管中，加入 100µl 蛋白酶 K 和 70µl Buffer SDS，颠倒混匀数次，室温放置 10 分钟。
 - **发酵液或培养液（阴性细菌）：**转移 1 细菌培、拭子浸泡液、组织匀浆液、体液等(<1 x 10¹⁰ 个细菌)至 5.0ml 离心管中，5,000 x g 离心 15 分钟收集细菌，倒弃培养液。加入 1000µl Buffer ATL Minus 涡旋重悬细菌，加入 50µl Buffer SDS 和 100µl Proteinase K 混匀，65 度温育 30 分钟。
2. 加入 40µl RNase Solution 至消化液中，混匀，室温放置 10-30 分钟。
富含 RNA 有肝脏、肾脏或细胞，室温放置 30 分钟，血液或体液样品室温放置 10 分钟。
3. 加入 1ml 变性液 AL，颠倒混匀 10-15 次，55°C 温育 15 分钟，其间颠倒混匀数次。
粘稠样品，涡旋混匀 10 秒形成均匀的溶液。
4. 加入 100µl 磁珠液 MP 和 2000µl Buffer BD，颠倒混匀 15~30 次让 DNA 和磁珠充分结合在一起，磁力架静置 1~2 分钟，倒弃或吸弃溶液，瞬离后再吸弃残液。
5. 加入 3000µl Buffer GW1，涡旋混匀 10 秒，磁力架上静置 1 分钟，倒弃或吸弃溶液。
6. 加入 3000µl Buffer GW1，涡旋混匀 10 秒，磁力架上静置 1 分钟，倒弃或吸弃溶液。
7. 加入 3000µl Buffer GW2，涡旋混匀 10 秒，磁力架上静置 1 分钟，倒弃或吸弃溶液。
8. 加入 3000µl Buffer GW2，涡旋混匀 10 秒，磁力架上静置 1 分钟，倒弃或吸弃溶液。

9. 不要从磁力架上取下离心管中，缓慢加入 3000µl Buffer BW3，不要打散磁珠，静置 60 秒，小心吸弃溶液。
10. 加入 200~300µl Elution Buffer 样品中，轻轻拍打让磁珠从壁上脱落并重悬在 Elution Buffer 中，55° C, 600~800rpm 振荡温育 10 分钟让 DNA 充分溶解。
11. 转移至磁力架上吸附 2 分钟，把 DNA 转移至新的离心管中。

第三部分：核酸提取仪操作

1. 瓶装试剂：按预分装试剂表格所示，按各种试剂分装至 96 孔板对应的孔中。

1/7排孔	450µl Buffer BD, 25µl 磁珠MP
第2/8排孔	750µl 洗涤液GW1
第3/9排孔	750µl 洗涤液GW1
第4/10排孔	750µl 洗涤液GW2
第5/11排孔	750µl 洗涤液GW3
第6/12排孔	100µl 洗脱液EB

2. 转移第一部分第 3 步的混匀液（0.45~0.5ml）至第 1 或 7 排孔中。
3. 把磁力外套插到仪器中，把 96 孔板放到仪器中(A1 孔按左内角放置)。
4. 启动程序，约 40 分钟，结束提取。
5. 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	步骤名称	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	1	900	360s	7	0	0	90s	0	0	自动	/	/
2	清洗1	2	750	120s	7	0	0	90s	0	0	自动	/	/
3	清洗2	3	750	120s	7	0	0	90s	0	0	自动	/	/
4	清洗3	4	750	120s	7	0	0	60s	0	0	自动	/	/
5	清洗4	5	750	0	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
6	洗脱1	6	100	250s	8	0	0	0	0	0	自动	6	55
7	洗脱2	6	100	350s	6	0	0	90s	0	40	自动	6	55
8	弃磁	3	500	30s	8	0	0	0	0	0	自动	/	/