

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 和 RNA 操作方案	5
常见问题回答	12

版本: 2017-03

简介

MagPure FFPE DNA/RNA LQ Kit 为石蜡包埋组织样品 DNA/RNA 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 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/RNA 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/RNA LQ Kit

产品编号	D6327-01C	D6327-02C
纯化次数	48 次	96 次
MagBind Particles	1.1 ml	2.2 ml
MagPure Particles N	1.1 ml	2.2 ml
Deparaffinization Solution	25 ml	40 ml
Buffer ATL	20 ml	40 ml
Buffer BST1	20 ml	40 ml
DNase I	600 ul	2 x 600 ul
DNase Buffer	6 ml	30 ml
Proteinase K	24 mg	48 mg
Protease Dissolve Buffer	1.8 ml	3 ml
Buffer MW1 *	44 ml	110 ml
Buffer MW2 *	50 ml	2 x 50 ml
Nuclease Free Water	15 ml	30 ml
说明书	1	1

保 质 期

MagPure FFPE DNA/RNA LQ Kit 除 MagBind Particles, MagPure Particles N 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。MagBind Particles、MagPure Particles N 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 和 MagPure Particles N 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 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。
- MagBind Particles 和 MagPure Particles N 初次使用时, 必须剧烈摇晃 1 分钟让磁珠充分分散。

方案 1. 石蜡包埋组织 DNA/RNA 操作方案

该方案适合于从石蜡切片组织样品中分别提取 DNA 和 RNA。

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,并转移至 1.5ml 离心管中。
2. 加入 600 μ l Deparaffinization Solution 至样品中,涡旋混匀 15 秒。
3. 56 $^{\circ}$ C 水浴 6 分钟,涡旋混匀 20 秒让石蜡充分溶解。
4. 13,000 \times g 离心 3 分钟,吸弃上清液。
5. **加入 20 μ l Proteinase K 和 150 μ l Buffer ATL 至样品中,涡旋混匀 15 秒。**
6. 56 $^{\circ}$ C 温育 60 分钟,90 $^{\circ}$ C 温育 60 分钟。
7. 短暂离心收集管壁上的液滴。**加入 300 μ l Buffer BST1 和 20 μ l MagPure Particles N 至样品中,涡旋混匀 15 秒,室温颠倒混匀 2~3 分钟。**
8. 转移至磁力架上吸附 3 分钟,转移上清液至新的离心管,按第 14 步进行用于 RNA。保留磁珠,按第 9~13 步进行操作提取 DNA。
9. **加入 500 μ l Buffer MW1 至磁珠中,涡旋 10 秒重悬磁珠。**转移至磁力架上吸附 2 分钟。倒弃或吸弃溶液。
10. **加入 500 μ l Buffer MW2 至磁珠中,涡旋 10 秒重悬磁珠。**转移至磁力架上吸附 2 分钟。倒弃或吸弃溶液。
11. 重复第 10 步一次。
12. 短暂离心,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 30 μ l Nuclease Free Water, 涡旋打散磁珠。**55 $^{\circ}$ C 振荡温育 5~10 分钟。转移至磁力架上吸附 5 分钟,把 DNA 转移至新的离心管中。
14. 取第 8 次的上清液,加入 20 μ l MagBind Particles 和 350 μ l 异丙醇,涡旋混匀 15 秒,室温放置 5 分钟,其间颠倒混匀次数。
15. 转移至磁力架上吸附 5~10 分钟,倒弃或吸弃溶液。

16. 加入 10ul DNase I 和 90ul DNase Buffer, 涡旋 10 秒重悬磁珠, 室温静置 15min。
17. **加入 500ul Buffer MW1 至磁珠中, 颠倒混匀 15-30 次, 室温放置 5 分钟。**转移至磁力架上吸附 2 分钟。倒弃或吸弃溶液。
18. **加入 500ul Buffer MW1 至磁珠中, 涡旋 10 秒重悬磁珠。**转移至磁力架上吸附 3 分钟。倒弃或吸弃溶液。
19. **加入 500ul Buffer MW2 至磁珠中, 涡旋 10 秒重悬磁珠。**转移至磁力架上吸附 3 分钟。倒弃或吸弃溶液。
20. 重复第 19 步一次。
21. 短暂离心, 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 5 分钟。
22. **加入 30ul Nuclease Free Water, 涡旋打散磁珠。室温放置 5~10 分钟。**转移至磁力架上吸附 5 分钟, 把 RNA 转移至新的离心管中。

方案 2. 石蜡包埋组织总核酸提取方案

该方案适合于从石蜡切片组织样品中同时提取 DNA 和 RNA。

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,并转移至 1.5ml 离心管中。
2. 加入 500 μ l Deparaffinization Solution 至样品中,涡旋混匀 15 秒。
3. 56 $^{\circ}$ C 水浴 6 分钟,涡旋混匀 20 秒让石蜡充分溶解。
4. 12,000 \times g 离心 3 分钟,吸弃上清液。
5. **加入 20 μ l Proteinase K 和 150 μ l Buffer ATL 至样品中,涡旋混匀 15 秒。**
6. 56 $^{\circ}$ C 温育 60 分钟。90 $^{\circ}$ C 温育 60 分钟。
7. 短暂离心收集管壁上的液滴。**加入 200 μ l Buffer BST1、20 μ l MagBind Particles 和 300 μ l 异丙醇,涡旋混匀 15 秒,室温放置 5 分钟,其间颠倒混匀次数。**
8. 转移至磁力架上吸附 5~10 分钟,倒弃或吸弃溶液。
9. **加入 400 μ l Buffer MW1 至磁珠中,涡旋 10 秒重悬磁珠。**转移至磁力架上吸附 3 分钟。倒弃或吸弃溶液。
10. **加入 400 μ l Buffer MW2 至磁珠中,涡旋 10 秒重悬磁珠。**转移至磁力架上吸附 3 分钟。倒弃或吸弃溶液。
11. 重复第 10 步一次。
12. 短暂离心,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 5 分钟。
13. **加入 50 μ l Nuclease Free Water,涡旋打散磁珠。室温放置 5~10 分钟。**转移至磁力架上吸附 5 分钟,把核酸转移至新的离心管中。

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	
Buffer MW1 和 Buffer 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，加入正确量的乙醇。
磁珠没有干燥充分	磁珠必须干燥 5-10 分钟以去除残留的乙醇。
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 5 μ l RNase A (25mg/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 MW2 后，静置 5 分钟后，再离心。