

【产品名称】 磁珠法游离 DNA 大量提取试剂盒

【预期用途】 本产品适用于从 1~6ml 血清、血浆、体液、积液等样品中提取游离 DNA。

【主要组成成份】

货号	D5436-10	D5436-50	主要成分
磁珠液 MPG2	1.6 ml	10 ml	磁珠液
Carrier RNA	110 µg	110 µg	Poly A
蛋白酶 K	3 ml	16 ml	重组蛋白酶
Buffer SDS	3 ml	16 ml	十二烷基硫酸钠
结合液 MLK	90 ml	450 ml	异硫氰酸胍/表面活性剂
洗涤液 MAW1	60 ml	270 ml	异硫氰酸胍
洗涤液 MW2	20 ml	100 ml	Tris/NaCl
洗脱液 EB	5 ml	15 ml	10mm Tris,pH8.5

【储存条件及有效期】 本产品室温运输和保存，有效期 18 个月。

【准备工作】

- 溶解 Carrier RNA: 加入 1ml 洗脱液 EB 至 Carrier RNA，涡旋 10 秒后待用或保存于 -20℃。实验证明 0.2~0.5µg Carrier RNA 至样品中，一起提取，有利于提高回收率且不影响 qubit 读数。
- 使用前，洗涤液 MW2 按标签所示，加入适量的无水乙醇进行稀释。
- 样品体积蛋白酶 K/磁珠 MPG2/结合液 MLK 用量的关系，批量操作时，Proteinase K/Carrier RNA 可以预先混匀。

样品体积	1 ml	2 ml	3 ml	4 ml	5 ml	6 ml
蛋白酶 K	50 µl	100 µl	150 µl	200 µl	250 µl	300 µl
Buffer SDS (Streck 类保存)	50 µl	100 µl	150 µl	200 µl	250 µl	300 µl
Carrier RNA(可选)	0.1 µg	0.2 µg	0.3 µg	0.4 µg	0.5 µg	0.5 µg
磁珠液 MPG2	30 µl	60 µl	90 µl	120 µl	150 µl	180 µl
结合液 MLK	1.6 ml	3.2 ml	4.8 ml	6.4 ml	8.0 ml	9.6 ml

Streck 保存血液或体液样品，因含甲醛成分，DNA 与蛋白质有轻微交联，而随放置时间而加强。用 Buffer SDS/PK 消化 30-60 分钟可解开交联，让 DNA 充分游离出来，从而提高 DNA 产量。EDTA 保存血液或体液类样品，可以省略 SDS 消化步骤。

A: 手工提取操作

- 转移 0.05 倍样品体积蛋白酶 K 和 Carrier RNA 和 1~6ml 血浆或血清等样品至离心管中，混匀。处理类 Streck 样品：加入 0.05 倍样品体积的 Buffer SDS 混匀，55℃ 温育 30~60 分钟充分分离 DNA。
- 加入 1.6 倍样品体积的结合液 MLK 和磁珠 MPG2，室温持续颠倒混匀 15 分钟，磁力架或离心收集磁珠，吸弃溶液，短暂离心后吸尽残液。
若没有大体积磁力架，可以离心收集磁珠：3000 x g 离心 3 分钟。
- 加入 1.5 ml 洗涤液 MAW1，涡旋 10 秒，磁力架收集磁珠吸弃溶液。
若为更方便操作，MAW1 重悬磁珠后，转移重悬液至 2.0ml 离心管中操作。
- 加入 1.5 ml 洗涤液 MAW1，涡旋 10 秒，磁力架收集磁珠吸弃溶液。
- 加入 1.5 ml 洗涤液 MW2，涡旋 10 秒，磁力架收集磁珠吸弃溶液。
- 加入 1.5 ml 洗涤液 MW2，涡旋 10 秒，磁力架收集磁珠吸弃溶液。
处理 4~6ml 样品时，因磁珠用量较多，建议重复第 6 步一次。
- 短暂离心吸尽残液，55℃ 金属浴烘干 10~15 分钟让磁珠彻底干燥。
cfDNA 是短片段 DNA，易溶解，磁珠过分干燥不影响洗脱效率。
- 加入 50~70µl 洗脱液 EB，室温振荡 5~10 分钟溶解 DNA。短暂离心收集磁珠，把 DNA 转移至新的离心管中。

B: 32 通道核酸提取仪清洗

- 按手工操作步骤 A 进行第 1~2 步进行操作，磁力架或离心收集磁珠，倒弃废液，短暂离心吸弃全部残液，加入 0.9ml 洗涤液 MAW1，涡旋重悬磁珠，然后转移至 96 孔板的孔 1/7 中。
为更充分转移磁珠，先加入 0.5ml 洗涤液 MAW1 重悬磁珠，转移至孔 1 或孔 7 中，再加入 0.4ml 洗涤液 MAW1 冲洗管壁，再转移至对应的孔 1 或孔 7 中。
- 按下表，在 96 孔板添加洗涤液 MAW1 和 MAW2，以及洗脱液。

孔 1/7	孔 2/8	孔 3/9	孔 4/10	孔 5/11	孔 6/12
900µl 磁珠重悬液	900µl 洗涤液 MAW1	900µl 洗涤液 MW2	900µl 洗涤液 MW2	900µl 洗涤液 MW2	60~90µl 洗脱液 EB
预分装货号：D5436-32-48					

- 把 96 孔板放到仪器中，插入 8 联磁套。
- 启动程序，约 30 分钟完成清洗、干燥和洗脱。

5. 从第 6/12 孔转移出 DNA 至 1.5ml 离心管中。

C: MagMix8 通道提取仪操作步骤(1~4ml, 48 孔板)

- 加入 0.05 倍样品体积的蛋白酶 K&Carrier RNA, 以及 1.0~4.0ml 血浆或血清至离心管中混匀。
处理类 Streck 保存样品: 加入 0.05 倍样品体积 Buffer SDS 混匀, 55°C 温育 30~60 分钟解离 DNA。
- 加入 1.6 倍样品体积的结合液 MLK, 颠倒 10~15 次, 按下表把混合液分装到 48 孔板中, 把清洗液 MAW1, MW2, 磁珠 MPG2, 以及洗脱液分装到对应的孔中。

孔位	样品体积			
	1ml血浆	2ml血浆	3ml血浆	4ml血浆
预装货号	D5436-8-1-48	D5436-8-2-48	D5436-8-3-48	D5436-8-4-48
孔1	混合液分两份:	混合液分三份: 孔1/2/3: 各1.8ml	混合液分四份: 2.0ml/孔	混合液分四份: 2.7 ml/孔
孔2	孔1/2: 各1.3ml			
孔3	空			
孔4	1.5ml MAW1	1.5ml MAW1		
孔5	1.5ml MW2	1.5ml MW2	2.5 ml MAW1	2.5 ml MAW1
孔6	1.5ml MW2	1.5ml MW2	2.5 ml MW2	2.5 ml MW2
	25µl MPG2	40µl MPG2	50µl MPG2	60µl MPG2
孔7	60~70µl 洗脱液EB至洗脱条中。			

- 把 48 孔板放到仪器中, 插入 8 联磁套, 把洗脱条插到仪器中。
- 启动程序约 60 分钟完成清洗、干燥和洗脱。把洗脱条中的 DNA 转移至 1.5ml 离心管中。

D: MagMix4/MagMix24 提取仪&KingFishe Flex24 操作步骤(2~6ml, 24 矮板)

- 加入 0.05 倍样品体积的蛋白酶 K&Carrier RNA, 加入 2.0~6.0 ml 血浆或血清至离心管中混匀。
处理类 Streck 保存样品: 加入 0.05 倍样品体积 Buffer SDS 混匀, 55°C 温育 30~60 分钟解离 DNA。
- 加入 1.6 倍样品体积的结合液 MLK, 颠倒 10~15 次, 按下表把混合液分装到 24 孔板中, 把清洗液 MAW1, MW2, 磁珠 MPG2, 以及洗脱液分装到对应的孔中。

4通道	24通道	样品体积		
24孔板 (10ml, 矮板)		2 ml血浆	4 ml血浆	6 ml血浆
预装货号 (4通道)		D5436-4A-2-24	D5436-4A-4-24	D5436-4A-6-24
预装货号 (24通道)		D5436-24A-2-24	D5436-24A-4-24	D5436-24A-6-24
孔1	板1 (样品板)	~5.2 ml混合液	~5.2 ml混合液	~5.2 ml混合液
孔2	板2 (样品板)	/	~5.2 ml混合液	~5.2 ml混合液

孔3	板3 (样品板)	3.0 ml MAW1	3.0 ml MAW1	~5.2 ml混合液
孔4	板4 (清洗板1)	3.0 ml MW2	3.0 ml MW2	5.0 ml MW1
孔5	板5 (清洗板2)	3.0 ml MW2	3.0 ml MW2	5.0 ml MW2
		70 µl MPG2	80 µl MPG2	90 µl MPG2
孔6	板6 (洗脱板)	80µl洗脱液EB	80µl洗脱液EB	80µl洗脱液EB

- 把 48 孔板放到仪器中, 插入 8 联磁套, 把洗脱条插到仪器中。
- 启动程序约 60 分钟完成清洗、干燥和洗脱。
- 把洗脱条中的 DNA 转移至 1.5ml 离心管中。

E: MagMix4/MagMix24 提取仪操作步骤(3~9ml, 24 高板)

- 加入 0.05 倍样品体积的蛋白酶 K&Carrier RNA, 加入 3~9 ml 血浆或血清至离心管中混匀。
处理类 Streck 保存样品: 加入 0.05 倍样品体积 Buffer SDS 混匀, 55°C 温育 30~60 分钟解离 DNA。
- 加入 1.6 倍样品体积的结合液 MLK, 颠倒混匀 10~15 次, 按下表把混合液分装到 24 孔板中, 把清洗液 MAW1, MW2, 磁珠 MPG2, 以及洗脱液分装到对应的孔中。

4通道	24通道	样品体积		
24孔板 (15 ml, 高板)		3 ml血浆	6 ml血浆	9 ml血浆
预装货号 (4通道)		D5436-4B-3-24	D5436-4B-6-24	D5436-4B-9-24
预装货号 (24通道)		D5436-24B-3-24	D5436-24B-6-24	D5436-24B-9-24
孔1	板1 (样品板)	8.1ml混合液	8.1ml混合液	8.1 ml混合液
孔2	板2 (样品板)	/	8.1ml混合液	8.1 ml混合液
孔3	板3 (样品板)	4.0 ml MAW1	5.0 ml MAW1	8.1 ml混合液
孔4	板4 (清洗板1)	4.0 ml MW2	5.0 ml MW2	8.0 ml MAW1
		90 µl MPG2	110 µl MPG2	130 µl MPG2
孔6	板6 (洗脱板)	90µl洗脱液EB	90µl洗脱液EB	90µl洗脱液EB

- 把 24 孔板放到仪器中, 插入 24 或 4 联磁套。
- 启动程序约 70 分钟完成清洗、干燥和洗脱。
- 把洗脱孔或洗脱板的 DNA 转移至 1.5ml 离心管中。