

【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	D5437-10	D5437-50	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
结合液 MLKC	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/MLKC 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
Carrier RNA(可选)	0.1µg	0.2µg	0.3µg	0.4µg	0.5µg	0.5µg
磁珠液 MPG2	30 µl	60 µl	90 µl	120 µl	150 µl	180 µl
MLKC	1.5 ml	3.0 ml	4.5 ml	6.0 ml	7.5 ml	9.0 ml

A: 手工提取操作

- 转移 0.05 倍样品体积的蛋白酶 K&Carrier RNA，以及 1~6 ml 血浆或血清至离心管中，混匀。
- 加入 1.5 倍样品体积的结合液 MLKC 和磁珠 MPG2，室温持续颠倒混匀 20~30 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。
若没有大磁力架，可以离心收集磁珠：3000 x g 离心 3 分钟。
- 加入 1.6 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 1.6 ml 洗涤液 MAW1，涡旋 10 秒，磁力架收集磁珠吸弃溶液。
- 加入 1.6 ml 洗涤液 MW2，涡旋 10 秒，磁力架收集磁珠吸弃溶液。
- 加入 1.6 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 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，短暂离心吸弃残液。加入 0.9ml 洗涤液 MAW1，吸打数次重悬磁珠，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
D5437-32-48					

- 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 1.0~4.0 ml 血浆或血清至离心管中混匀。
- 加入 1.5 倍样品体积的 Buffer MLKC, 颠倒混匀 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	D5437-8-1-48	D5437-8-2-48	D5437-8-3-48	D5437-8-4-48
孔1	混合液分两份:	混合液分三份: 孔1/2/3: 各1.7ml	混合液分四份: ~1.9ml/孔	混合液分四份: ~2.6 ml/孔
孔2	孔1/2: 各1.3ml			
孔3	空			
孔4	1.5 ml MAW1	1.5 ml MAW1		
孔5	1.5 ml MW2	1.5 ml MW2	2.5 ml MAW1	2.5 ml MAW1
孔6	1.5 ml MW2 25µl MPG2	1.5 ml MW2 40µl MPG2	2.5 ml MW2 50µl MPG2	2.5 ml MW2 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 70 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, 以及 2.0~6.0 ml 血浆或血清至离心管中混匀。
- 加入 1.5 倍样品体积的 MLKC, 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 (10ml, 矮板)	2 ml血浆	4 ml血浆	6 ml血浆	
预装货号 (4通道)	D5437-4A-2-24	D5437-4A-4-24	D5437-4A-6-24	
预装货号 (24通道)	D5437-24A-2-24	D5437-24A-4-24	D5437-24A-6-24	
孔1	板1 (样品板)	5.0 ml混合液	5.0 ml混合液	5.0 ml混合液

孔2	板2 (样品板)	/	5.0 ml混合液	5.0 ml混合液
孔3	板3 (样品板)	3.0 ml MAW1	3.0 ml MAW1	5.0 ml混合液
孔4	板4 (清洗板1)	3.0 ml MW2	3.0 ml MW2	5.0 ml MAW1
孔5	板5 (清洗板2)	3.0 ml MW2 70 µl MPG2	3.0 ml MW2 80 µl MPG2	5.0 ml MW2 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 24 孔板放到仪器中, 插入 4 或 24 联磁套。
- 启动程序约 80 分钟完成清洗、干燥和洗脱。
- 把 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, 以及 3.0~9.0 ml 血浆或血清至离心管中混匀。
- 加入 1.5 倍样品体积的 MLKC, 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)	D5437-4B-3-24	D5437-4B-6-24	D5437-4B-9-24	
预装货号 (24通道)	D5437-24B-3-24	D5437-24B-6-24	D5437-24B-9-24	
孔1	板1 (样品板)	~7.7ml混合液	~7.7ml混合液	~7.7ml混合液
孔2	板2 (样品板)	/	~7.7ml混合液	~7.7ml混合液
孔3	板3 (样品板)	3.0 ml MAW1	4.0 ml MAW1	~7.7ml混合液
孔4	板4 (清洗板1)	3.0 ml MW2	4.0 ml MW2	8.0 ml MAW1
孔5	板5 (清洗板2)	3.0 ml MW2 100 µl MPG2	4.0 ml MW2 120 µl MPG2	8.0 ml MW2 140 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 90 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。