

# MagPure FFPE DNA Kit N

## 磁珠法 FFPE DNA 提取试剂盒 N

本产品为石蜡包埋组织样品 DNA 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 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。

### 产 品 组 份

● 瓶装试剂

| 产品编号                     | D6323-01N | D6323-02N | D6323-03N  |
|--------------------------|-----------|-----------|------------|
| 纯化次数                     | 48 次      | 96 次      | 480 次      |
| Buffer DPS               | 40 ml     | 80 ml     | 400 ml     |
| Proteinase K             | 24 mg     | 50 mg     | 220 mg     |
| Protease Dissolve Buffer | 1.8 ml    | 5 ml      | 15 ml      |
| MagPure Particles N      | 1.2 ml    | 2.5 ml    | 11 ml      |
| Buffer ATL               | 15 ml     | 30 ml     | 120 ml     |
| Buffer BST1              | 30 ml     | 50 ml     | 250 ml     |
| Buffer BW1 *             | 26 ml     | 53 ml     | 220 ml     |
| Buffer GW2 *             | 20 ml     | 50 ml     | 2 x 100 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 Protinase K 和 MagPure Particles N 保存于 2-8℃，其余产品保存于室温，有效期 18 个月。

产品组份

- 预分装试剂，版本，尖底板

| 货 号                   |                                      | 试剂组份与装量 | D6323N-TL-06 | D6323N-S-48 |
|-----------------------|--------------------------------------|---------|--------------|-------------|
| Proteinase K Solution |                                      |         | 2.5 ml       | 1.2 ml      |
| Buffer DPS            |                                      |         | 80 ml        | 40 ml       |
| Buffer ATL            |                                      |         | 30 ml        | 20 ml       |
| DA-Tip                |                                      |         | 12 个         | 24 个        |
| 尖底板/<br>尖底试剂条         | 第 1/7 排孔：400µl 结合液 BST1              |         | 6 块          | 48 条        |
|                       | 第2/8排孔：400µl 洗涤液 BW1                 |         |              |             |
|                       | 第3/9排孔：400µl 洗涤液 BW1                 |         |              |             |
|                       | 第4/10排孔：20µl 磁珠液MPN<br>400µl 洗涤液 GW2 |         |              |             |
|                       | 第5/11排孔：400µl 洗涤液GW2                 |         |              |             |
|                       | 第6/12排孔：100µl 洗脱液 EB                 |         |              |             |

保存条件

本产品室温运输，长期保存时，把 Protinase K Soluiton 保存于 2-8℃，其余产品保存于室温，有效期 18 个月。

方案 1. 单管操作

- 55℃和 90℃金属浴
  - 溶解 Proteinase K: 加入 Protease Dissolve Buffer 至瓶子中，颠倒使之溶解，保存于-20~8℃。
  - Buffer BW1 和 Buffer GW2 按标签所示，加入适量的无水乙醇进行稀释。
1. 去除组织中多余石蜡，用切片机切出 1~5 片切片，并转移至 1.5ml 离心管中。
  2. 加入 600µl Buffer DPS 至样品中，56℃ 水浴 6 分钟，立即涡旋 20 秒让石蜡充分溶解。
  3. 13,000 × g 离心 1 分钟让组织块沉淀到管底。

若石蜡较多时，这一步最好把脱蜡液全部吸弃，以简化下游操作。若样品比较好时，吸弃脱蜡液，然后再重复 2-3 步进行第二步脱蜡。

4. **加入 200 $\mu$ l Buffer ATL，吸打混匀 1 次使组织块悬起。**
5. **短暂离心，加入 20 $\mu$ l Proteinase K 至下层溶液，吸打混匀 2 次。56 $^{\circ}$ C 温育 60 分钟或过夜消化，90 $^{\circ}$ C 温育 60 分钟。**
  - 若第 3 步没有吸弃脱蜡液时，加入 Buffer ATL 和蛋白酶 K 时，不要涡旋，以防止 SDS、蛋白酶 K 与脱蜡液产生乳化而消化效果。若第 3 步吸弃脱蜡液，Buffer ATL 和蛋白酶 K 可以同时加入。
  - 56 $^{\circ}$ C 温育过夜时，90 $^{\circ}$ C 温育步骤可以省略。
  - 处理新鲜或冻存组织样品时，取不超过 10mg 组织块至 1.5ml 离心管中，加入 20 $\mu$ l 蛋白酶 K 和 200 $\mu$ l Buffer ATL，56 $^{\circ}$ C 振荡温育 30~60 分钟或直至样品完全消化。
6. **13,000  $\times$  g 离心 1 分钟，转移 200 $\mu$ l 消化液到新的离心管中。**
  - 若第 3 步没有吸弃脱蜡液时，离心后吸取下层溶液（上层为 DPS 石蜡层）。中间层过多，增加离心时间或离心速度，充分破乳后再吸取下层溶液。
7. **根据下游应用，选择高纯方案或高产量方案：**
  - **高纯方案：**加入 400 $\mu$ l Buffer BST1 和 20 $\mu$ l MagPure Particles N 至样品中，涡旋混匀 10 秒。室温放置 5 分钟，其间颠倒混匀数次。转移至磁力架上吸附 2 分钟。倒弃或吸弃溶液。
  - **高产量方案：**加入 200 $\mu$ l Buffer BST1、300 $\mu$ l 异丙醇和 20 $\mu$ l MagPure Particles N 至样品中。涡旋混匀 15 秒。室温放置 5 分钟，其间颠倒混匀数次。转移至磁力架上吸附 2 分钟。倒弃或吸弃溶液。
8. **加入 500 $\mu$ l Buffer BW1，涡旋 10 秒。转移至磁力架上吸附 1 分钟。倒弃或吸弃溶液。**
9. **加入 500 $\mu$ l Buffer BW1，涡旋 10 秒。转移至磁力架上吸附 1 分钟。倒弃或吸弃溶液。**
10. **加入 500 $\mu$ l Buffer GW2，涡旋 10 秒。转移至磁力架上吸附 1 分钟。倒弃或吸弃溶液。**
11. **加入 500 $\mu$ l Buffer GW2，涡旋 10 秒。转移至磁力架上吸附 1 分钟。倒弃或吸弃溶液。**
12. **短暂离心，吸弃所有溶液。打开管盖，空气干燥 10 分钟。**
13. **加入 50~100 $\mu$ l Elution Buffer，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 2~3 分钟，把 DNA 转移至新的离心管中。**

方案 2: 32/48 通道核酸提取仪操作

1. 瓶装试剂：按预分装试剂表格所示，按各种试剂分装至 96 孔板的对应孔中。  
预分装试剂：颠倒 96 孔板让磁珠充分悬浮，正放 1 分钟后，去除封口袋和封口膜。
2. 在第 1/7 排孔中，加入 200µl 消化液（按方案 1 的第 1-6 步处理）。
  - 可选：高产量方案，在第 1/7 排孔中，再加入 350µl 异丙醇。
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. 编写程序，并启动对应程序。约 30 分钟，提取结束。
5. 取出 96 孔板和磁力外套。
6. 把 DNA 转移至 1.5ml 离心管中，把产物保存于-20~8℃。
- MagMix 16/32/48 核酸提取仪参数

| 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  | 吸磁   | 4  | 400 | 30s  | 8  | 0       | 0  | 60s  | 0  | 0  | 自动 | /  | /  |
| 2  | 结合   | 1  | 700 | 300s | 8  | 0       | 0  | 90s  | 20 | 30 | 自动 | /  | /  |
| 3  | 清洗1  | 2  | 400 | 60s  | 9  | 0       | 0  | 90s  | 0  | 0  | 自动 | /  | /  |
| 4  | 清洗2  | 3  | 400 | 60s  | 9  | 0       | 0  | 90s  | 0  | 0  | 自动 | /  | /  |
| 5  | 清洗3  | 4  | 400 | 30s  | 9  | 0       | 0  | 60s  | 0  | 0  | 自动 | /  | /  |
| 6  | 清洗4  | 5  | 400 | 30s  | 9  | 0       | 0  | 60s  | 0  | 0  | 自动 | /  | /  |
| 7  | 干燥   | 5  | 0   | 0    | 0  | 3min/晾干 |    | 0    | 0  | 0  | 自动 | /  | /  |
| 8  | 洗脱   | 6  | 100 | 300s | 9  | 0       | 0  | 60s  | 0  | 50 | 自动 | 6  | 55 |
| 9  | 弃磁   | 5  | 500 | 30s  | 9  | 0       | 0  | 0    | 0  | 0  | 自动 | /  | /  |