

## MagPure Tissue&Blood DNA Kit

### 磁珠法通用 DNA 提取试剂盒

本产品为干血片、拭子、抗凝血液、血清、血浆、唾液、培养细胞、少量组织和石蜡切片等生物样品 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 DNA 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

- 瓶装试剂

产品编号	D6314-00	D6314-01	D6314-02	D6314-03
纯化次数	24 次	48 次	96 次	5 × 96 次
MagPure Particles N	0.6 ml	1.1 ml	2 × 1.1 ml	11 ml
Buffer ATL	10 ml	20 ml	35 ml	160 ml
Buffer AL	10 ml	20 ml	35 ml	160 ml
Buffer BD*	5 ml	5 ml	15 ml	50 ml
Proteinase K	12 mg	24 mg	48 mg	240 mg
Protease Dissolve Buffer	1.8 ml	1.8 ml	5 ml	15 ml
Buffer BW1*	22 ml	44 ml	66 ml	2 × 110 ml
Elution Buffer	10 ml	10 ml	30 ml	100 ml

- 预分装试剂, 版本, 尖底板

货号	试剂组份与装量	D6314-TL-06	D6314-S-48
Proteinase K Solution		2.5 ml	1.2 ml
Buffer ATL		35 ml	20 ml
Buffer AL		35 ml	20 ml
DA-Tip		12 个	24 个
尖底板 试剂条	1/7排孔: 450µl 结合液BD	6 块	48 条
	第2/8排孔: 450µl 洗涤液BW1		
	第3/9排孔: 450µl 洗涤液BW1		
	第4/10排孔: 450µl 洗涤液GW2 20µl MagPure Particles N		
	第5/11排孔: 500µl 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 Proteinase 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。

### 第一部分: 样品的裂解和消化

#### A. 液体样品(血液、血清、血浆、细胞重悬液等样品)

- 在 1.5ml 离心管中，加入 20 $\mu$ l Proteinase K 和 200 $\mu$ l 血液、血浆、血清、细胞重悬液或其它液体样品。加入 200 $\mu$ l Buffer AL，颠倒混匀 3 次，70℃ 振荡温育 10 分钟。

#### B. 动物组织(<10mg 动物组织)

- 把 <10mg 组织样品转移至 1.5ml 离心管中。加入 20 $\mu$ l Proteinase K 和 200 $\mu$ l Buffer ATL，55℃ 振荡温育 30~120 分钟或直至样品完全消化。加入 200 $\mu$ l Buffer AL，涡旋 5 秒。70℃ 水浴 10 分钟。

#### C. 干血片 (FTA Card 或其它干血片)

- 转移 1~5 个 3mm 直径的血片至 2.0ml 离心管中。加入 20 $\mu$ l Proteinase K 和 300 $\mu$ l Buffer ATL，55℃ 振荡(1200~1500rpm)温育 60 分钟。加入 150 $\mu$ l Buffer AL，65℃ 振荡(1200~1500rpm)温育 20 分钟。

#### D. 干拭子样品

- 转移干拭子至 2ml 离心管中，加入 500 $\mu$ l Buffer ATL 和 20 $\mu$ l Proteinase K 至样品中，65℃ 振荡温育 30 分钟。

#### E. 湿拭子(含细胞保存液)

- 10,000  $\times$  g 离心 1 分钟收集脱落细胞，吸弃多余保存液，余下 250 $\mu$ l 保存液和拭子。加入 150 $\mu$ l Buffer AL 和 20 $\mu$ l 蛋白酶 K，65℃ 振荡 (900-1200rpm)温育 30 分钟。

#### F. 唾液样品

- 在 1.5ml 离心管中，加入 20 $\mu$ l Proteinase K 和 450 $\mu$ l 唾液或拭子浸泡液，55~65℃ 振荡温育 30 分钟。

#### G. 培养细胞 (不超过 $1 \times 10^6$ 个细胞)，脱落细胞

- 取适量培养液、尿液、羊水或腹水等液体样品至离心管中，2,000  $\times$  g 离心 10 分钟收集细胞，去除上清液，余下 50 $\mu$ l 残液和沉淀，涡旋重悬细胞。加入 150 $\mu$ l Buffer ATL 和 20 $\mu$ l 蛋白酶 K，55℃ 振荡温育 20 分钟，加入 200 $\mu$ l Buffer AL 混匀。

#### H. 石蜡切片组织

1. 转移石蜡切片至 1.5ml 离心管中。14,000 x g 离心 1 分钟让样品完全沉淀到管底。加入 20 $\mu$ l Proteinase K 和 350 $\mu$ l Buffer ATL 至样品中。65°C 轻轻振荡温育 60 分钟。90°C 温育 60 分钟。14,000 x g 离心 1 分钟。用移液枪小心穿过石蜡层，转移 200 $\mu$ l 下层的消化液至新的离心管中。加入 150 $\mu$ l Buffer AL 至样品中，涡旋混匀 5 秒。

## 第二部分. 单管操作

### 准备事项

- Buffer BW1 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。
- 75%乙醇

1. **转移 400~450 $\mu$ l 消化液（第一步）至 1.5ml 离心管中。**
2. **加入 450 $\mu$ l Buffer BD 和 20 $\mu$ l MagPure Particles N 至样品中，**颠倒混匀 10~15 次，室温静置 5 分钟，其间颠倒混匀数次。
3. 转移至磁力架上吸附 3 分钟，倒弃或吸弃溶液。
4. **加入 500 $\mu$ l Buffer BW1，涡旋 15 秒。**转移至磁力架上吸附 2 分钟。倒弃或吸弃溶液。
5. **加入 500 $\mu$ l Buffer BW1，涡旋 15 秒。**转移至磁力架上吸附 2 分钟。倒弃或吸弃溶液。
6. **加入 500 $\mu$ l 75%乙醇，涡旋 15 秒。**转移至磁力架上吸附 1 分钟。倒弃或吸弃溶液。
7. **加入 500 $\mu$ l 75%乙醇，涡旋 15 秒。**转移至磁力架上吸附 1 分钟。倒弃或吸弃溶液。
8. 短暂离心收集管壁上液滴，吸尽残液，空气干燥 5 分钟。
9. **加入 30~100 $\mu$ l Elution Buffer，**涡旋打散磁珠，55°C 振荡温育 10 分钟。
10. 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.32/48 通道核酸提取仪操作

#### 准备事项

- Buffer BXW1 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。
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。  
预分装试剂：振荡 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 400~450 $\mu$ l 消化液(第一步部分)。
  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 30 分钟，结束提取。
  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 $^{\circ}$ C。

#### MagMix 32/MagMix 48 仪器的参数

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	500	30s	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
2	结合	1	800	300s	8	0	0	90s	20	20	自动	/	/
3	清洗1	2	500	90s	9	0	0	90s	0	0	自动	/	/
4	清洗2	3	500	90s	9	0	0	90s	0	0	自动	/	/
5	清洗3	4	500	60s	9	0	0	60s	0	0	自动	/	/
6	清洗4	5	500	60s	9	0	0	60s	0	0	自动	/	/
7	干燥	5	500	0	9	3min/晾干		0	0	0	自动	/	/
8	洗脱	6	100	600s	9	0	0	90s	0	40	自动	6	55
9	弃磁	3	500	30s	9	0	0	0	0	0	自动	/	/