

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: 血液/细胞 DNA 手工单管式操作方案	5
方案 2: 血液/细胞 DNA 手工 96 孔板操作方案	7
方案 3: 血液/细胞 DNA 的移液工作站方案	9
常见问题回答	12

版本: 2014-09

简介

MagPure Blood DNA LQ Kit 为抗凝血液、浓缩血液、白膜层、淋巴细胞和培养细胞等生物样品 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(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。吸附了核酸的纳子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 Blood DNA 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、二代测序、芯片分析、病毒检测等实验。

组 成

MagPure Blood DNA LQ Kit

产品编号	D6311-01	D6311-02	D6311-03
纯化次数	48 次	96 次	5 x 96 次
MagPure Particles	1.2 ml	2.4 ml	12 ml
Buffer BL	15 ml	30 ml	120 ml
Buffer BD*	6 ml	10 ml	50 ml
Proteinase K	24 mg	48 mg	240 mg
Protease Dissolve Buffer	1.8 ml	3 ml	15 ml
Buffer BW1 *	44 ml	66 ml	3 x 110 ml
Buffer BW3	30 ml	60 ml	250 ml
Elution Buffer	15 ml	30 ml	120 ml
说明书	1	1	1

注：Buffer BD 和 Buffer BW1 使用前须用无水乙醇进行稀释。

保 质 期

本产品室温(15~25℃)可保存 18 个月。Proteinase K 干粉和 MagPure Particles 室温运输和保存,长期保存(>6 个月)建议把 MagPure Particles 和 Proteinase K 干粉保存于 2~8℃。溶解后的 Proteinase K 需保存于-20~8℃。

准备工作

- 70%乙醇
- 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 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。
- MagPure Particles 初次使用时, 必须剧烈摇晃 1~2 分钟让磁珠充分分散。
- Nunc U96 DeepWell Plate(Cat.No. 260251) [高通量]
- 96 孔振荡仪, 如 IKA MS3 Vortex, Eppendorf MixMate [手工高通量]
- 单管磁力架[手工单管]或 96 孔磁力架, MG96-1 [手工高通量]
- 封口膜 [手工高通量]

方案 1.单管式手工操作

该方案适合于从 200 μ l 抗凝血液、浓缩血液、白膜层和细胞重悬液等样品中提取 DNA。

1. 在 1.5ml 离心管中，加入 20 μ l Proteinase K 和 200 μ l Buffer BL。
2. 转移 200 μ l 血液、浓缩血液、白膜层或细胞重悬液($<3 \times 10^6$)等样品至装有裂解液的离心管中。高速涡旋 20 秒。
3. 70°C 水浴或振荡温育 10 分钟。
4. 加入 20 μ l MagPure Particles 和 400 μ l Buffer BD 至样品中。颠倒混匀 20~30 次。室温静置 5 分钟，其间颠倒混匀数次。
Buffer BD 使用前须用无水乙醇进行稀释。
5. 转移至磁力架上吸附 2 分钟。倒弃或吸弃溶液。
6. 加入 600 μ l Buffer BW1，涡旋 15 秒重悬磁珠。
Buffer BW1 使用前须用无水乙醇进行稀释。
7. 转移至磁力架上吸附 1 分钟。倒弃或吸弃溶液。
8. 重复第 6~7 步一次。
9. 加入 600 μ l 70%乙醇，涡旋 15 秒重悬磁珠。
10. 转移至磁力架上吸附 1 分钟。倒弃或吸弃溶液。
11. 重复第 9~10 步一次。
12. 短暂离心收集管壁上液滴，转移至磁力架上，吸尽残液。
13. 不要从磁力架上取下离心管中。缓慢加入 500 μ l Buffer BW3 到离心管中，不要打散磁珠。
14. 静置 50 秒，小心吸弃所有溶液。
15. 加入 50~100 μ l Elution Buffer，涡旋打散磁珠。55°C 振荡温育 10 分钟。若无振荡温匀，其间涡旋混匀 2~3 次加速 DNA 的溶解。
16. 转移至磁力架上吸附 2 分钟，把 DNA 转移至新的离心管中。

方案 2. 96 孔板高通量手工提取

该方案适合于从 200 μ l 抗凝血液、浓缩血液、白膜层、细胞重悬液等样品中提取 DNA。

1. 在 Nunc 深孔板中，加入 20 μ l Proteinase K、20 μ l MagPure Particles 和 200 μ l Buffer BL。
2. **转移 200 μ l 血液、浓缩血液、白膜层或细胞悬液($<3 \times 10^6$)至装至孔中。** 1,200~1,400rpm 振荡混匀 2 分钟。贴上封口膜，70°C 水浴 10 分钟。
3. 短暂离心收集管壁上的液滴。撕去封口膜，**加入 400 μ l Buffer BD 至样品中。** 900~1,200rpm 振荡混匀 5 分钟。【调整振荡速度让样品达到最佳的混匀效果，但不能让溶液溢出孔口，可用同体积的水进行测试】
4. **转移至 96 孔磁力架上吸附 3 分钟。** 将磁力架和 96 孔板扣在一起，反转 180 度倒弃废液，然后反扣于一叠吸水纸 1 分钟吸尽残液。【在反转倒废液时，让磁力架和 96 孔板紧扣一起不要松动，以防止磁珠的丢失，废液倒完后，反扣于吸水纸上吸尽孔口的残液，不要让溶液回流到孔中】
5. **加入 600 μ l Buffer BW1 至孔中。** 1,000~1,200rpm 振荡混匀 2 分钟打散磁珠。
6. 转移至磁力架上吸附 2 分钟。将磁力架和 96 孔板扣在一起，反转 180 度倒弃废液，然后反扣于一叠吸水纸 1 分钟吸尽残液。
7. 重复第 5~6 步一次。
8. **加入 600 μ l 70%乙醇。** 1,000~1,200rpm 振荡混匀 2 分钟打散磁珠。
9. 转移至磁力架上吸附 2 分钟。将磁力架和 96 孔板扣在一起，反转 180 度倒弃废液，然后反扣于一叠吸水纸 1 分钟吸尽残液。
10. 重复第 8~9 步一次。让磁力架和 96 孔板反扣于吸水纸 5 分钟彻底吸弃残液。
11. 37°C 干燥 15 分钟。
12. **加入 100~120 μ l 预热至 70°C 的 Elution Buffer，** 1,200rpm 振荡混匀 10 分钟。
13. 转移至磁力架上吸附 3 分钟，把 DNA 转移至新的 96 孔板中。

方案 3. 移液工作站流程设计

该方案适合于从 200 μ l 抗凝血液、浓缩血液、白膜层、细胞重悬液等样品中提取 DNA。由于不同的移液工作站的设置和配件都有所不同，请根据平台进行调整，以下流程是根据 Hamilton 移液工作站而设计的。

1. 在 2.2ml 96 孔 Nunc 深孔板中，加入 20 μ l Proteinase K、20 μ l MagPure Particles 和 200 μ l Buffer BL。[MagPure Particles 沉降时间短，转移前需吸打混匀]
2. **转移 200 μ l 血液、浓缩血液、白膜层、细胞重悬液等样品至装有裂解液的孔中。** 1,000~1,400rpm 振荡混匀 1 分钟。
3. 65~70°C 振荡（1,000~1,400rpm）温育 12 分钟。
4. **加入 400 μ l Buffer BD 至样品中。** 1,000~1,200rpm 振荡混匀 5 分钟。【调整振荡速度让样品达到最佳的混匀效果，但不能让溶液溢出孔口，可用同体积的水进行测试】
5. 转移至 96 孔磁力架上吸附 3 分钟。吸弃所有的溶液。
6. **加入 600 μ l Buffer BW1，** 1,000~1,400rpm 振荡混匀 2 分钟打散磁珠。
7. 转移至磁力架上吸附 2 分钟。吸弃溶液。
8. 重复第 6~7 步一次。
9. **加入 600 μ l 70%乙醇，** 1,000~1,400rpm 振荡混匀 2 分钟打散磁珠。
10. 转移至磁力架上吸附 2 分钟。吸弃溶液。
11. 重复第 9~10 步一次。
12. 不要从磁力架上取下 96 孔板。把移液枪插到 96 孔底部，缓慢加入 300~500 μ l Buffer BW3，缓慢吸打混匀 2 次，然后再缓慢吸弃所有溶液。【若使用 8 通道枪时，处理完 8 个样品后，再处理下一批样品，至所有样品完毕】
13. 加入 100~120 μ l Elution Buffer，55°C 振荡（1,000rpm）温育 12 分钟。
14. 转移至磁力架上吸附 2 分钟，把 DNA 转移至新的 96 孔板中。

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。

现象及原因	解决方法
DNA 有颜色	
Proteinase K 与 Buffer BL 混合时间不能太长	Proteinase K 与 Buffer BL 混合后，放置时间不要超过 30 分钟。
Proteinase K 活性下降	使用新制备的 Proteinase K。Proteinase K 需要分装保存，用完后，立即保存于-20℃。
血液贮藏条件不正确	血液样品因贮藏条件不对，出现凝固块。用移液枪吸打几次打散血液样品的凝固块。
DNA 产量低	
样品中细胞或病毒含量低	处理无细胞的体液时可用超滤柱浓缩于 250 μ l。
Buffer BD 没有加入乙醇稀释	按说明书或瓶子标签所示，加入正确的乙醇。
Proteinase K 活性下降	使用新制备的 Proteinase K。Proteinase K 需要分装保存，用完后，立即保存于-20℃。
Buffer BW1 中乙醇没有加入或加入量不够	按说明书或瓶子标签所示，加入正确的乙醇。
MagPure Particles 没有充分打散	初步使用 MagPure Particles 时，必须充分剧烈振荡 1-2 分钟以打散 MagPure Particles。
洗脱体积不够	增加洗脱体积以提高洗脱效率