

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 TL	15 ml	30 ml	120 ml
Buffer BST3	30 ml	50 ml	250 ml
Buffer BW1 *	26 ml	53 ml	220 ml
Buffer GW2 *	20 ml	50 ml	2 × 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 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。

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	D6323NS-48
Proteinase K Solution		2.5 ml	1.2 ml
Buffer DPS		80 ml	40 ml
Buffer TL		30 ml	20 ml
DA-Tip		12 个	24 个
尖底板/ 尖底试剂条	第 1/7 排孔: 400 μ l 结合液 BST3	6 块	48 条
	第2/8排孔: 400 μ l 洗涤液 BW1		
	第3/9排孔: 400 μ l 洗涤液 BW1		
	第4/10排孔: 20 μ l 磁珠液MPN 400 μ l 洗涤液 GW2		
	第5/11排孔: 400 μ l 洗涤液GW2		
	第6/12排孔: 100 μ l 洗脱液 EB		

保存条件

本产品室温运输, 长期保存时, 把 Protinase K Solutioin 保存于 2-8 $^{\circ}$ C, 其余产品保存于室温, 有效期 18 个月。

方案 1. 单管操作

- 55 $^{\circ}$ C 和 90 $^{\circ}$ C 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 $^{\circ}$ C。
 - 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 600 μ l Buffer DPS 至样品中**, 56 $^{\circ}$ C 水浴 6 分钟, 立即涡旋 20 秒让石蜡充分溶解。
 3. 13,000 \times 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 μ l Buffer TL，吸打混匀 1 次使组织块悬起。**
5. **短暂离心，加入 20 μ 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 TL 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 TL 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 μ l 蛋白酶 K 和 200 μ l Buffer TL，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 μ 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 μ l Buffer BST3 和 20 μ 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 μ l Buffer BST3、300 μ l 异丙醇和 20 μ 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 μ 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 μ 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 μ 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 μ 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 μ 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

- 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。
 - 在第 1/7 排孔中，加入 200 μ l 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 350 μ l 异丙醇。
 - 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)。
 - 编写程序，并启动对应程序。约 30 分钟，提取结束。
 - 取出 96 孔板和磁力外套。
 - 把 DNA 转移至 1.5ml 离心管中，把产物保存于-20~8 $^{\circ}$ C。
- 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	/	/