

MagPure FFPE DNA/RNA Kit C

磁珠法 FFPE DNA RNA 提取试剂盒 C

本产品为石蜡包埋组织样品 DNA/RNA 提取提供了一个自动化解决方案，可以从同一份石蜡包埋组织切片样品中提取得到 RNA 和 DNA。纯化的 RNA 可直接用于 RT-PCR、Northern blot、核酸保护和体外翻译等实验。纯化的 DNA 可直接用于 PCR、Southern 杂交等实验。

产品组份

● 瓶装试剂

产品编号	D6327-01C	D6327-02C	D6327-03C
纯化次数	48 次	96 次	480 次
MagPure Particles N	2.5 ml	5 ml	22 ml
Buffer DPS	40 ml	90 ml	450 ml
Proteinase K	24 mg	50 mg	240 mg
Protease Dissolve Buffer	1.8 ml	5 ml	15 ml
DNase I	600 μ l	2 x 600 μ l	10 x 600 μ l
DNase Buffer C	30 ml	60 ml	270 ml
Buffer ATL	15 ml	30 ml	120 ml
Buffer BST1	20 ml	40 ml	200 ml
Buffer GW1*	44 ml	110 ml	2 x 220 ml
Buffer MW2*	20 ml	50 ml	2 x 100 ml
Nuclease Free Water	15 ml	30 ml	120 ml

保存条件

本产品除 DNase I 外，其他组分可室温运输，长期保存时，把 MagPure Particles N 和 Proteinase K 干粉保存于 2-8°C，DNase I 保存于 -20~8°C，其余产品保存于室温，有效期 18 个月。

产品组份

货号	预分装试剂和装量	D6327C-S-48	D6327C-TL-06
		48 人份	96 人份
蛋白酶 K		24 mg	50 mg
蛋白酶溶解液		1.8 ml	6 ml
磁珠液 MPN		1.0 ml	3.0 ml
DNase I		600 μ l	2 x 600 μ l
脱蜡液 DPS		40 ml	90 ml
消化液 ATL		15 ml	30 ml
DA-Tip		24 个	12 个
2.0ml 尖底板 或尖底试剂条	第1/7排孔: 300 μ l 结合液 BST1		
	第2/8排孔: 600 μ l DNase Buffer C 20 μ l 磁珠液 MPN		
	第3/9排孔: 600 μ l 洗涤液 GW1	48 条	6 块
	第4/10排孔: 600 μ l 洗涤液 MW2		
	第5/11排孔: 70 μ l 洗脱液 NFW		
	第6/12排孔: 70 μ l 洗脱液 EB		

保存条件

本产品除 DNase I 外，其他组分可室温运输，长期保存时，把 DNase I 保存于 -20~8°C，其余产品保存于室温，有效期 18 个月。

【准备工作】

- 溶解蛋白酶 K: 加入蛋白酶溶解液至瓶子中，颠倒数次后保存于 -20~8°C。
- buffer GW1/MW2 使用前加入乙醇进行稀释。

第一部分：样品的裂解和消化

- 用手术剪刀和镊子去除石埋包埋组织中的多余的石蜡。用切片机切出 1~3 片切片，并转移至 1.5ml 离心管中。
- 加入 700 μ l 脱蜡液 DPS 至样品中，颠倒混匀，56°C 水浴 5 分钟。立即涡旋 15~30 秒让石蜡充分溶解。

3. $13,000 \times g$ 离心 3 分钟让组织块沉淀到管底，吸弃脱蜡液。
4. 加入 $20\mu l$ 蛋白酶 K 和 $200\mu l$ 消化液 ATL，涡旋混匀。 $56^{\circ}C$ 温育 60 分钟， $90^{\circ}C$ 温育 60 分钟。 $13,000 \times g$ 离心 1 分钟，得上清液备用，按第 2/3 步进行操作。

第二部分：单管操作

5. 转移 $200\mu l$ 上清液至新的离心管中，加入 $300\mu l$ Buffer BST1 和 $20\mu l$ 磁珠液 MPN，涡旋 10 秒，室温放置 2~3 分钟，其间混匀数次。转移至磁力架上吸附 1 分钟，转移全部上清液至新的离心管，按第 10 步进行用于 RNA 提取。保留磁珠，按第 6~9 步进行操作提取 DNA。
Buffer BST1 与 Buffer ATL 混匀时会产生结晶。把 Buffer BST1 预热至 $50\sim 55$ 度可以防止 SDS 析出。
6. 加入 $500\mu l$ Buffer GW1，涡旋 10 秒。磁力架吸附 1 分钟，倒弃溶液，瞬离吸尽残液。
7. 加入 $500\mu l$ 洗涤液 MW2，涡旋 10 秒。磁力架吸附 1 分钟，倒弃溶液，瞬离吸尽残液。
8. 加入 $500\mu l$ 洗涤液 MW2，涡旋 10 秒。磁力架吸附 1 分钟，倒弃溶液，瞬离吸尽残液。打开管盖，空气干燥 5~10 分钟。
9. 加入 $50\sim 100\mu l$ Nuclease Free Water， $55^{\circ}C$ 振荡 5~10 分钟。 $13,000 \times g$ 离心 3 分钟，把 DNA 转移至新的离心管中。
10. 在第 5 步含 RNA 的上清液中，加入 $20\mu l$ 磁珠液 MPN 和 $350\mu l$ 异丙醇，颠倒混匀 10-15 次，室温放置 5 分钟，其间混匀数次。磁力架吸附 2 分钟，倒弃溶液，瞬离吸尽残液。打开管盖，空气干燥 3 分钟。
11. 加入 $500\mu l$ DNase Buffer C 和 $10\mu l$ DNase I，室温 $600\sim 800 rpm$ 振荡 15~20 分钟消化 DNA。磁力架吸附 2 分钟，倒弃溶液，瞬离吸尽残液。
12. 加入 $500\mu l$ Buffer GW1，涡旋 10 秒。磁力架吸附 1 分钟，倒弃溶液，瞬离吸尽残液。
13. 加入 $500\mu l$ 洗涤液 MW2，涡旋 10 秒。磁力架吸附 1 分钟，倒弃溶液，瞬离吸尽残液。
14. 加入 $500\mu l$ 洗涤液 MW2，涡旋 10 秒。磁力架吸附 1 分钟，倒弃溶液，瞬离吸尽残液。打开管盖，空气干燥 5~10 分钟。
15. 加入 $50\sim 100\mu l$ Nuclease Free Water，涡旋 5 秒，室温放置 5 分钟。 $13,000 \times g$ 离心 3 分钟，把 DNA 转移至新的离心管中。

第三部分：32/48 通道核酸提取仪的纯化操作

- 取出试剂盒的所需组份，颠倒混匀让磁珠充分重悬。正放 1-2 分钟，撕去封口袋和封口膜。
- DNA 提取：**在第 1/7 排孔中，加入 200 μ l 消化液。
- 打开机器，把 96 孔板和磁套放到仪器中。启动对应程序，约 15 分钟提取暂停。
- RNA 提取：**加入 350 μ l 异丙醇和 20 μ l 磁珠液 MPN 至第 1/7 排孔中。加入 10 μ l DNaseI 至第 2/8 排孔中。
- 执行程序，约 30 分钟后，仪器提取结束。
- 把第 6/12 排孔中的 DNA 转移至 1.5ml 离心管中，把产物保存于-20~8℃。
- 把第 5/11 排孔中的 RNA 转移至 1.5ml 离心管中，把产物保存于-20~8℃。

序号	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	2	600	20s	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
2	结合	1	500	4 min	8	0	0	60s	30	30	自动	1	50
3	清洗1	3	600	1 min	8	0	0	60s	10	10	自动	/	/
4	清洗2	4	600	1 min	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
5	干燥	6	100	0	0	2	晾干	0	0	0	自动	/	/
6	洗脱D	6	100	2 min	9	0	0	0	0	0	自动	6	55
7	暂停	1	500	0	0	0	暂停	0	0	0	自动	/	/
8	结合	1	950	6 min	7	0	0	60s	30	30	自动	/	/
9	酶解	2	600	12 min	8	0	0	60s	10	10	自动	/	/
10	清洗1	3	800	2 min	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
11	清洗2	4	800	1 min	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
12	干燥2	5	100	0	0	2	晾干	0	0	0	自动	/	/
13	洗脱R	5	100	4 min	8	0	0	60s	0	30s	自动	/	/
14	弃磁	4	600	10s	8	0	0	0	0	0	自动	/	/
14	洗脱	6	100	4 min	9	0	0	60s	0	30s	自动	6	55
15	弃磁	3	700	1 min	9	0	0	0	0	0	自动	/	/