

MagPure FFPE DNA Kit

磁珠法 FFPE DNA 提取试剂盒

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	D6323-01	D6323-02	D6323-03
纯化次数	48 次	96 次	480 次
Proteinase K	24 mg	50 mg	220 mg
Protease Dissolve Buffer	1.8 ml	5 ml	15 ml
MagPure Particles G	1.7 ml	3.5 ml	17 ml
Buffer ATL	15 ml	30 ml	120 ml
Buffer DPS	35 ml	70 ml	350 ml
Buffer BST1	30 ml	60 ml	270 ml
Buffer BW1	26 ml	53 ml	220 ml
Buffer GW2	12 ml	25 ml	3 x 50 ml
Elution Buffer	10 ml	20 ml	60 ml

- 预分装试剂, 版本, 尖底板

货 号		试剂组份与装量	D6323-TL-06	D6323-S-48
Proteinase K Solution			2.5 ml	1.2 ml
Buffer ATL			30 ml	20 ml
Buffer DPS			70 ml	35 ml
DA-Tip			12 个	24 个
尖底板/ 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: 15µl 磁珠液MPG2 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 和 MagPure Particles G 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℃振荡金属浴
 - 溶解蛋白酶 K: 加入 2.4ml 蛋白酶溶解液至瓶子中，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 x 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吸弃以简化下游操作。石蜡去除不充分时，吸弃脱蜡液后再重复 2-3 步进行第二次脱蜡以充分去除石蜡。

4. **加入 200 μ l Buffer ATL 至离心管底。**
5. **加入 20 μ l Proteinase K 至下层溶液，吸打混匀 3-5 次并让组织块悬起。** 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，加入 Buffer ATL 和蛋白酶 K 时，不要涡旋，以防止 ATL 中的 SDS、蛋白酶 K 与脱蜡液产生乳化而影响消化效果。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 μ l 蛋白酶 K 和 200 μ 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 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：**
 - **高纯度方案：**加入 400 μ l Buffer BST1 和 30 μ l MagPure Particles G 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 BST1、300 μ l 异丙醇和 30 μ l MagPure Particles G 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

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：高产量方案时，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。取出 96 孔板和磁力外套。
5. 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	800	300s	8	0	0	90s	50	50	自动	1	45
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	360s	9	0	0	60s	0	30	自动	6	55
9	弃磁	5	500	30s	9	0	0	0	0	0	自动	/	/

方案 3：不脱蜡的提取流程

1. 转移不超过 4 个石蜡切片至 1.5ml 离心管中，14,000 xg 离心 1 分钟或用镊子把切片挤到离心管底部。加入 200~250µl Buffer ATL 和 20ul Proteinase K，65 度 800rpm 振荡 1-2 小时或过夜消化。
2. 90 度温育 1 小时。【若 65 度温育过夜，可以省略这一步。】
3. 14000xg 离心 3 分钟，用移液枪头拨开或穿过石蜡，取 200µl 下层的消化液按手工或核酸提取仪进行操作。