

MagPure FFPE Total Nucleic Acid Kit

磁珠法 FFPE 总核酸提取试剂盒

本产品为 FFPE 样品,培养细胞、微量或穿刺组织、固定组织等生物样品的总 DNA 和 RNA 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。得到的 RNA 可直接用于 RT-PCR,荧光定量、二代测序、病毒 RNA 检测等实验。得到的 DNA 可直接用于 PCR,荧光定量、二代测序等实验。

产 品 组 份: 瓶装试剂

产品编号	R6630-01	R6630-02	R6630-03
纯化次数	48 次	96 次	480 次
Proteinase K Solution	1.2 ml	2.5 ml	11 ml
MagPure Particles	2.5 ml	3.5 ml	17 ml
Buffer DPS	60 ml	100 ml	500 ml
Buffer ATL	30 ml	40 ml	180 ml
Buffer MLBN	40 ml	80 ml	350 ml
Buffer GW1 *	22 ml	44 ml	220 ml
Buffer MW2*	20 ml	50 ml	100 ml
RNase Free Water	10 ml	30 ml	60 ml

保 存 条 件

本产品室温运输,长期保存时,把 Proteinase K Soluiton 和 MagPure Particles 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

货 号		试剂组份与装量	R6630-TL-06	R6630-TL2-06	R6630-S-48
纯化次数			6 × 16 人份	6 × 8 人份	1 × 48 人份
Proteinase K Solution			2.5 ml	1.2 ml	1.2 ml
Buffer DPS			100 ml	60 ml	60 ml
Buffer ATL			40 ml	20 ml	20 ml
DA-Tip			12 个	6 个	24 个
尖底板/ 试剂条	1/7: 600µl Buffer MLBN		6 块	6 块	48 条
	2/8: 600µl Buffer GW1				
	3/9: 600µl Buffer GW1				
	4/10: 600µl Buffer MW2				
	30µl MagPure Particles				
	5/11: 600 µl Buffer MW2				
6/12: 100µl RNase Free Water					

保 存 条 件

本产品室温运输，长期保存时，把 Proteinase K Soluiton 保存于 2-8℃，有效期 12 个月。

【准备工作】

- 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

- **石蜡包埋组织(脱蜡):** 转移 1~5 个石蜡包埋组织切片至 1.5ml 离心管中, 加入 700 μ l 脱蜡液 DPS, 56°C 振荡温育 5~10 分钟溶解石蜡, 13,000 $\times$ g 离心 3 分钟让组织块沉淀到管底, 吸弃全部脱蜡液。加入 20 μ l 蛋白酶 K 和 300 μ l 消化液 ATL, 56°C 振荡温育 60 分钟, 90°C 温育 60 分钟, 13,000 $\times$ g 离心 3 分钟得上清液备用。
- **石蜡包埋组织(不脱蜡):** 转移 1~5 个石蜡包埋组织切片至 1.5ml 离心管, 加入 20 μ l 蛋白酶 K 和 350 μ l 消化液 ATL。60°C 振荡 (600-800rpm) 温育 60~120 分钟, 90°C 温育 60 分钟, 13,000 $\times$ g 离心 3 分钟, 用移液器拨开表面石蜡层, 取 250~300 μ l 下层消化液备用。
- **含甲醛保存液的样品(保存时间控制在 48 小时内):** 用 PBS 或生理盐水清洗样品, 去除多余的甲醛保存液。把组织处理成尽量小的碎片, 转移不超过 5mg 组织碎片至 1.5ml 离心管中。加入 300 μ l 消化液 ATL 和 20 μ l Proteinase K, 56°C 振荡温育 1-3 小时或过夜消化, 90°C 温育 90-120 分钟。13,000 $\times$ g 离心 3 分钟得上清液备用。
- **冻存或新鲜的组织样品(不超过 10mg):** 取不超过 10mg 组织 (尽量处理的细小碎片) 或穿刺组织至 1.5ml 离心管中, 加入 300 μ l 消化液 ATL 和 20 μ l Proteinase K, 用移液器吸打数次打散组织块或用电动匀浆器匀浆 10-15 秒, 37°C 振荡 (1500~2000rpm) 温育 15~20 分钟直至组织块完全消化。
- **悬浮细胞(不超过 2×10^6):** 500 $\times$ g 离心 10 分钟收集细胞, 去除培养基, 余下不超过 20 μ l 残液和细胞沉淀, 涡旋使细胞松散, 加入 250 μ l 消化液 ATL 和 20 μ l Proteinase K, 涡旋混匀, 室温放置 10 分钟。
- **贴壁细胞:** 吸去全部培养基, 加入 250 μ l 消化液 ATL 和 20 μ l Proteinase K, 室温低速振荡 10 分钟使细胞脱落。
- **液体样品:** 取 250 μ l 细胞悬液 (PBS)、250 μ l 血清、250 μ l 血浆、200 μ l 全血或白膜层, 100 μ g 骨髓等, 直接按第二部分或第三部分进行操作。

第二部分: 单管操作

1. 取 250~300 μ l 消化液、或上清液至 1.5ml 离心管。
体液样品: 转移液体样品和 20 μ l Proteinase K Solution 至 1.5ml 离心管中, 按第 2 步进行操作。
2. 加入 30 μ l MagPure Particles 和 600 μ l Buffer MLBN, 涡旋混匀 10~15 秒, 室温放置 10 分钟, 其间颠倒混匀数次, 转移至磁力架上 2 分钟, 倒弃或吸弃溶液。
3. 加入 500 μ l Buffer GW1, 涡旋 10 秒。转移至磁力架上吸附 1 分钟, 倒弃或吸弃溶液。
4. 加入 500 μ l Buffer GW1, 涡旋 10 秒。转移至磁力架上吸附 1 分钟, 倒弃或吸弃溶液。

- 加入 500µl Buffer MW2, 涡旋 10 秒。转移至磁力架上吸附 1 分钟，倒弃或吸弃溶液。
- 加入 500µl Buffer MW2, 涡旋 10 秒。转移至磁力架上吸附 1 分钟，倒弃或吸弃溶液。
- 短暂离心，收集管壁上的液滴，吸弃所有的溶液，室温干燥 10 分钟。
- 加入 70~100µl RNase Free Water 至样品中，55℃ 振荡温育 10 分钟。转移至磁力架上放置 2 分钟，转移 DNA/RNA 至新的离心管中。

第三部分：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。
- 转移 250~300µl 消化液或上清液至第 1/7 排孔中。
全血或血清等体液样品：转移液体样品和 20µl Proteinase K Solution 至第 1/7 排孔中。
- 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。
- 继续执行程序，约 40 分钟提取结束，取出 96 孔板和磁力外套。
- 把 RNA&DNA(第 6/12) 转移至 1.5ml 离心管中，把产物保存于-20~-8℃。

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	800	10s	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
2	结合	1	900	600s	8	0	0	60s	10	10	自动	/	/
3	清洗1	2	600	90s	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
4	清洗2	3	600	90s	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
5	清洗3	4	600	60s	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
6	清洗4	5	600	60s	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
7	干燥	5	600	0	8	5min		0	0	0	自动	/	/
8	洗脱	6	100	480s	8	0	0	60s	0	30	自动	6	55
9	弃磁	5	600	30s	8	0	0	0	0	0	自动	/	/