

目 录

简 介	2
原 理	2
试剂盒组成	3
保质期	3
准备工作	3
方案 1: 2ml 游离 DNA 的 KingFisher Flex 抽提方案	4
方案 2: 3ml 游离 DNA 的 KingFisher Flex 抽提方案	5
方案 3: 4ml 游离 DNA 的 KingFisher Flex 抽提方案	6
方案 4: 6ml 游离 DNA 的 KingFisher Flex 抽提方案	7
常见问题回答	8

版本: 2020-12

简介

MagPure Circulating DNA Maxi KF Kit 为血清、血浆等无细胞液体样品的游离 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。该试剂盒可在自动化核酸提取仪 KingFisher ML、KingFisher Flex、KingFisher Duo 上使用。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。吸附了核酸的纳米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 系统采用的溶液体系和纯化方式是专门为自动化核酸提取而设计的，已在 KingFisher 自动化核酸纯化仪上广泛运用。其它提取仪或移液工作站也可以使用。

MagPure Circulating DNA Maxi KF 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(EB)洗脱。洗脱的 DNA 可直接用于 PCR、病毒检测等实验。

组 成

MagPure Circulating DNA Maxi KF Kit

产品编号	MD5435-00	MD5435-01	MD5435-02
纯化次数(4ml)	10 次	50 次	200 次
MagPure Particle G	5 ml	10 ml	40 ml
Carrier RNA	120 µg	120 µg	310 µg
Proteinase K	50 mg	220 mg	4 x 220 mg
Protease Dissolve Buffer	3 ml	15 ml	60 ml
Buffer SDS(20%)	5 ml	20 ml	80 ml
Buffer MLK	100 ml	500 ml	4 x 500 ml
Buffer MKW1	50 ml	250 ml	2 x 500 ml
Buffer MW2*	20 ml	50 ml	2 x 100 ml
Elution Buffer	10 ml	20 ml	30 ml
说明书	1	1	1

保 质 期

MagPure Circulating DNA Maxi KF Kit 除 MagPure Particles G、Carrier RNA 和 Proteinase K 外，可在室温下(15-25℃)干燥保存 18 个月。长期保存时需置于 2-8℃。MagPure Particles G 和 Proteinase K 干粉在室温下运输。收到试剂盒后，把 Proteinase K/Carrier RNA 保存于-20℃。MagPure Particles G 保存于 2-8℃。

准 备 工 作

- 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，保存于-20℃。
- Buffer MW2 使用前，须按瓶子标签所示，加入无水乙醇进行稀释。
- 加入 500µl (10 次、50 次) / 1290ul (200 次) Elution Buffer 和 2ul (10 次、50 次) / 5ul (200 次) Proteinase K 至 Carrier RNA 中，涡旋混匀 15 秒，室温放置 10 分钟，完全溶解后保存于-20 度。

方案 1. 2ml 游离 DNA 在 KingFisher Flex 的标准方案

该方案适合于从 2ml 血清，血浆或其它无细胞样品中直接提取游离 DNA。

1. 按下表将样品和试剂转移 24 孔板中，并用标签笔标下板的名称。

板的名称	板类型	试剂名称与用量
Elution	24 孔板	Elution Buffer: 70µl
Wash 4	24 孔板	无水乙醇: 500µl
Wash 3	24 孔板	Buffer MW2: 4000µl
Wash 2	24 孔板	Buffer MKW1: 2000µl
Wash 1	24 孔板	Buffer MKW1: 2000µl 180µl MagPure Particles G Comb(磁力套)
Sample Plate	24 孔板	1: 在 15ml 离心管中，加入 100µl Proteinase K, 5µl Carrier RNA, 2ml 血浆, 100µl Buffer SDS 混匀后，55°C 消化 20 分钟，转移至 24 孔板。 2. 然后加入: 3.0ml Buffer MLK

2. 启动 KingFisher Bindit 3.3 程序，导入 MagPure_ctDNA_2ml 程序。
3. 执行程序，按提示将装有样品或试剂的 96 孔板放到仪器对应的槽中。
4. 约 35 分钟后程序执行完毕。取出 DNA 样品，把 DNA 保存于 -20°C。

方案 2. 3ml 游离 DNA 在 KingFisher Flex 的标准方案

该方案适合于从 3ml 血清，血浆或其它无细胞样品中直接提取游离 DNA。该方案需要更多的 Proteinase K，请另外订购。

1. 按下表将样品和试剂转移 24 孔板中，并用标签笔标下板的名称。
2. 准备一个 15ml 离心管，加入 150 μ l Proteinase K、5 μ l Carrier RNA、3ml 血浆、150 μ l Buffer SDS(20%)，涡旋混匀，55 $^{\circ}$ C 处理 20~40 分钟。

板的名称	板类型	试剂名称与用量
Elution	24 孔板	Elution Buffer: 70 μ l
Wash 4	24 孔板	无水乙醇: 500 μ l
Wash 3	24 孔板	Buffer MW2: 4000 μ l
Wash 2	24 孔板	Buffer MKW1: 2000 μ l
Wash 1	24 孔板	Buffer MKW1: 2000 μ l 180 μ l MagPure Particles G Comb(磁力套)
Sample Plate B	24 孔板	1.65ml 混和液 3.0ml Buffer MLK
Sample Plate A	24 孔板	1.65ml 混和液 3.0ml Buffer MLK

3. 启动 KingFisher Bindit 3.3 程序，导入 MagPure_ctDNA_3ml 程序。
4. 执行程序，按提示将装有样品或试剂的 96 孔板放到仪器对应的槽中。
5. 约 40 分钟后程序执行完毕。
6. 取出 DNA 样品，用封口膜封好。把 DNA 保存于-20 $^{\circ}$ C。

方案 3. 4ml 游离 DNA 在 KingFisher Flex 的标准方案

该方案适合于从 4ml 血清，血浆或其它无细胞样品中直接提取游离 DNA。该方案需要更多的 Proteinase K，请另外订购。

1. 按下表将样品和试剂转移 24 孔板中，并用标签笔标下板的名称。
2. 准备一个 15ml 离心管，加入 200 μ l Proteinase K、5 μ l Carrier RNA、4ml 血浆、200 μ l Buffer SDS(20%)，涡旋混匀，55 $^{\circ}$ C 处理 20~40 分钟。

板的名称	板类型	试剂名称与用量
Elution	24 孔板	Elution Buffer: 70 μ l
Wash 4	24 孔板	无水乙醇: 500 μ l
Wash 3	24 孔板	Buffer MW2: 4000 μ l
Wash 2	24 孔板	Buffer MKW1: 2000 μ l
Wash 1	24 孔板	Buffer MKW1: 2000 μ l 180 μ l MagPure Particles G Comb(磁力套)
Sample Plate B	24 孔板	2.2ml 混和液 3.0ml Buffer MLK
Sample Plate A	24 孔板	2.2ml 混和液 3.0ml Buffer MLK

3. 启动 KingFisher Bindit 3.3 程序，导入 MagPure_ctDNA_4ml 程序。
4. 执行程序，按提示将装有样品或试剂的 96 孔板放到仪器对应的槽中。
5. 约 40 分钟后程序执行完毕。
6. 取出 DNA 样品，用封口膜封好。把 DNA 保存于-20 $^{\circ}$ C。

方案 4. 6ml 游离 DNA 在 KingFisher Flex 的标准方案

该方案适合于从 6ml 血清，血浆或其它无细胞样品中直接提取游离 DNA。该方案需要更多的 Proteinase K，请另外订购。

1. 按下表将样品和试剂转移 24 孔板中，并用标签笔标下板的名称。
2. 准备一个 15ml 离心管，加入 300 μ l Proteinase K、5 μ l Carrier RNA、6ml 血浆、300 μ l Buffer SDS(20%)，涡旋混匀，55 $^{\circ}$ C 处理 20~40 分钟。

板的名称	板类型	试剂名称与用量
Elution	24 孔板	Elution Buffer: 70 μ l
Wash 4	24 孔板	无水乙醇: 500 μ l
Wash 3	24 孔板	Buffer MW2: 4000 μ l
Wash 2	24 孔板	Buffer MKW1: 2000 μ l
Wash 1	24 孔板	Buffer MKW1: 2000 μ l 180 μ l MagPure Particles G Comb(磁力套)
Sample Plate C	24 孔板	2.2ml 混和液 3.0ml Buffer MLK
Sample Plate B	24 孔板	2.2ml 混和液 3.0ml Buffer MLK
Sample Plate A	24 孔板	2.2ml 混和液 3.0ml Buffer MLK

3. 启动 KingFisher Bindit 3.3 程序，导入 MagPure_ctDNA_6ml 程序。
4. 执行程序，按提示将装有样品或试剂的 24 孔板放到仪器对应的槽中。
5. 约 40 分钟后程序执行完毕。取出 DNA 样品，用封口膜封好。把 DNA 保存于-20 $^{\circ}$ C。

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 的技术人员可随时为您提供服务，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 MLK 不能预先混合	Proteinase K 与 Buffer MLK 不能预先混合。样品与蛋白酶 K 先进行混匀后，才能加入 Buffer MLK。
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 250µl。
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 MKW1/MW2 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 G 没有充分打散	初步使用 MagPure Particles G 时，必须充分剧烈振荡 1-2 分钟以打散 MagPure Particles G。
洗脱体积不够	增加洗脱体积以提高洗脱效率。