

目 录

简介----- 2

原 理----- 2

试剂盒组成----- 3

保质期----- 2

准备工作----- 3

方案 1：500µl 游离 DNA 的手工富集方案----- 4

方案 2：2ml 游离 DNA 的手工富集方案----- 5

方案 3：4ml 游离 DNA 的手工富集方案----- 5

方案 4：1.0ml 游离 DNA 的机提富集方案----- 6

方案 5：2.0ml 游离 DNA 的机提富集提方案----- 7

方案 6：4.0ml 游离 DNA 的机提富集提方案----- 8

版本: 2025-05

简介

MagPure CFDNA Rich LQ Kit 为血清、血浆等无细胞液体样品的游离 DNA(>100bp)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 Haminton 移液工作站、KingFisher ML、KingFisher Flex、KingFisher Duo 等自动化核酸提取仪上使用。获得的 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 CFDNA RICH LQ 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(Elution Buffer)洗脱。洗脱的 DNA 可直接用于 PCR、病毒检测等实验。

保质期

MagPure CFDNA Rich LQ Kit 除 MagPure Particles G2 和 Proteinase K 外,可在室温下(15-25℃)干燥保存 18 个月。MagPure Particle G2 和 Proteinase K 干粉在室温下运输。收到试剂盒后,把 Proteinase K 保存于 2~8℃。MagPure Particle G 保存于 2-8℃。

组 成

MagPure CFDNA Rich LQ Kit

产品编号	D6335-01	D6335-02	D6335-03
纯化次数(0.5 ml)	48 次	96 次	480 次
MagPure Particles G2	2.5 ml	4.0 ml	2 × 9 ml
Proteinase K	30 mg	60 mg	280 mg
Protease Dissolve Buffer	1.8 ml	5 ml	15 ml
Buffer CXP	30 ml	60 ml	300 ml
Buffer IP	15 ml	30 ml	120 ml
Buffer MAW1 *	40 ml	80 ml	400 ml
Buffer MW2*	10 ml	20 ml	100 ml
Elution Buffer	10 ml	15 ml	30 ml
说明书	1	1	1

注：Buffer MAW1, Buffer MW2 使用前须用无水乙醇进行稀释。

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, 轻轻颠倒让蛋白酶 K 充分溶解, 于 2-8℃保存一年。
- Buffer MAW1/MW2 使用前, 须按瓶子标签所示, 加入无水乙醇进行稀释。
- MagPure Particle G2 初次使用时, 必须剧烈摇晃 1~2 分钟让磁珠充分分散。
- 按下表比例配制 Buffer CXP 与异丙醇的混合液, 室温可长期保存。

名称	配制方法	DNA 分选范围
Buffer CXP	/	可以去除>600bp 的片段。
Buffer CXP(10%)	9ml Buffer CXP+1ml 异丙醇	可以去除>400bp 片段。
Buffer CXP(15%)	8.5ml Buffer CXP+1.5ml 异丙醇	可以去除>300bp 片段。
Buffer CXP(20%)	8.0ml Buffer CXP+2.0ml 异丙醇	可以去除>250bp 片段。
请根据下游要求, 初次实验时先对异丙醇浓度进行对比, 选出最佳浓度。Buffer CXP 和异丙醇混合液, 可室温保存 18 个月。		

方案 1. 500 μ l 游离 DNA 富集提取方案

1. 在 1.5ml 离心管中，加入 25 μ l Proteinase K、15 μ l 磁珠液 MPG2，以及 500 μ l 血清或血浆样品，颠倒混匀数次。
2. 加入 600 μ l Buffer CXP (0~20%异丙醇)，25~50°C 颠倒混匀 30 分钟，磁力架静置 2 分钟吸附磁珠，转移上清液(含小片段 DNA)至新的离心管中。
3. 加入 20 μ l 磁珠液 MPG2 和 200 μ l Buffer IP 至上清液，室温颠倒混匀 8 分钟。转移至磁力架上，静置 1 分钟吸附磁珠，小心吸弃所有溶液。
批量操作时，Buffer IP 和磁珠液 MPG2 可以预先混匀，该混和液可室温放置 1 个月。
4. 加入 500 μ l Buffer MAW1，混匀 10 秒。磁力架静置 1 分钟，小心吸弃所有溶液。
5. 加入 500 μ l Buffer MW2，混匀 10 秒。磁力架静置 1 分钟，小心吸弃所有溶液。
6. 加入 500 μ l Buffer MW2，混匀 10 秒。磁力架静置 1 分钟，小心吸弃所有溶液。
7. 短暂离心，吸弃所有溶液，空气干燥 15 分钟。
8. 加 50 μ l Elution Buffer，室温振荡温育 5~10 分钟溶解 DNA，转移至磁力架静置 1 分钟，转移 DNA 溶液至新的 1.5ml 离心管中。

方案 2. 2ml 游离 DNA 富集提取方案

1. 在 10ml 离心管中，加入 100 μ l Proteinase K、60 μ l 磁珠液 MPG2 和 2 ml 血清/血浆或其它待测样品，颠倒混匀数次。
2. 加入 2.4ml Buffer CXP (0~20%异丙醇)，25~50°C 颠倒混匀 30 分钟，磁力架静置 3 分钟或 5000rpm 离心 10 分钟去除磁珠，转移上清液(含小片段 DNA)至新的离心管中。
3. 加入 100 μ l 磁珠液 MPG2 和 800 μ l Buffer IP 至上清液，室温颠倒混匀 8 分钟。磁力架静置 3 分钟吸附磁珠，小心吸弃所有溶液。
批量操作时，Buffer IP 和磁珠液 MPG2 可以预先混匀，该混和液可室温放置 1 周。
4. 加入 1.5 ml Buffer MAW1，混匀 10 秒，磁力架静置 1 分钟，小心吸弃所有溶液。
5. 加入 1.5 ml Buffer MAW1，混匀 10 秒，磁力架静置 1 分钟，小心吸弃所有溶液。

6. 加入 1.5 ml Buffer MW2, 混匀 10 秒, 磁力架静置 1 分钟, 小心吸弃所有溶液。
7. 加入 1.5 ml Buffer MW2, 混匀 10 秒, 磁力架静置 1 分钟, 小心吸弃所有溶液。
8. 短暂离心, 小心吸弃所有溶液, 55 度烘干 10 分钟。
9. 加 60~70 μ l Elution Buffer, 室温振荡温育 5~10 分钟溶解 DNA。
10. 瞬离后磁力架静置 3 分钟, 转移 DNA 溶液至新的 1.5ml 离心管中。

方案 3. 4.0ml 游离 DNA 富集提取方案

1. 在 15ml 离心管中, 加入 200 μ l Proteinase K、120 μ l 磁珠液 MPG2, 以及 4 ml 血清/血浆或其它待测样品, 颠倒混匀数次。
2. 加入 4.8ml Buffer CXP (0~20%异丙醇), 25~50°C 颠倒混匀 30 分钟, 磁力架静置 3 分钟或 5000rpm 离心 10 分钟去除磁珠, 转移上清液(含小片段 DNA)至新的离心管中。
3. 加入 1.6ml Buffer IP 至上清液, 颠倒混匀 10-15 次。
4. 转移一半体积的混匀液至 5~10ml 离心管中, 加入 100 μ l 磁珠液 MPG2, 室温颠倒混匀 8 分钟。瞬离后磁力架静置 3 分钟吸附磁珠, 小心吸弃所有溶液。
5. 把余下的混匀液再转移至含磁珠的离心管中, 涡旋重悬磁珠。室温颠倒混匀 8 分钟。瞬离后磁力架静置 3 分钟吸附磁珠, 小心吸弃所有溶液。
6. 加入 1.5ml Buffer MAW1, 混匀 10 秒。磁力架静置 1 分钟, 小心吸弃所有溶液。
7. 加入 1.5ml Buffer MAW1, 混匀 10 秒。磁力架静置 1 分钟, 小心吸弃所有溶液。
8. 加入 1.5 ml Buffer MW2, 混匀 10 秒。磁力架静置 1 分钟, 小心吸弃所有溶液。
9. 加入 1.5 ml Buffer MW2, 混匀 10 秒。磁力架静置 1 分钟, 小心吸弃所有溶液。
10. 短暂离心, 小心吸弃所有溶液,, 55 度烘干 10 分钟。
11. 加 70~80 μ l Elution Buffer, 室温振荡温育 6~10 分钟溶解 DNA。
12. 瞬离后磁力架静置 3 分钟, 转移 DNA 溶液至新的 1.5ml 离心管中。

方案 4：16/32/48/96 通道核酸提取仪操作(1ml)

1. 按下表把洗涤液/样品等加到深孔板对应的孔中，把磁力外套和 96 孔板放到仪器中。

孔位	样品量	使用前加入
第1/7排孔 (样品板1)	每孔加入： 333µl血清、血浆或其它待测 液体样品	每孔加入： 20µl Proteinase K 400µl Buffer CXP (0~20%异丙醇)
第2/8排孔 (样品板2)		
第3/9排孔 (样品板3)		
第4/10排孔 (清洗板1)	900 µl 洗涤液MAW1 以及 20µl MPG2	
第5/11排孔 (清洗板2)	900 µl 洗涤液 MW2 以及 20µl MPG2	
第6/12排孔 (洗脱板)	60 µl 洗脱液EB	

2. 启动对应程序约 30 分钟后暂停。
3. 取出 96 孔板，第 1/7, 2/8, 3/9 排孔，加入 150µl Buffer IP。
4. 把 96 孔板放回仪器中，继续执行程序，约 30 分钟后结束。
5. 取出 96 孔板和磁套，把 DNA 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	消化1	1	700	3	7	0	0	0	0	0	自动	1,2	50
2	消化2	2	700	5	7	0	0	0	0	0	自动	1,2	50
3	消化3	3	700	5	7	10	0	0	0	0	自动	1,2	50
4	吸磁	4	900	0.3	7	0	0	100	0	0	自动	/	/
5	结合1	1	700	7	7	0	0	120	20	20	自动	/	/
6	结合2	2	700	7	7	0	0	120	20	20	自动	/	/
7	结合3	3	700	7	7	0	0	120	20	20	自动	/	/
8	弃磁	4	900	2	7	0	0	0	0	0	自动	/	/
9	暂停	1	900	0	0	暂停加液		0	0	0	自动	/	/
10	吸磁	5	900	0.5	8	0	0	100	0	0	自动	/	/
11	结合	1	900	7	7	0	0	120	20	20	自动	/	/
12	结合	2	900	7	7	0	0	120	20	20	自动	/	/
13	结合	3	900	5	7	0	0	0	0	0	自动	/	/
14	吸磁	4	900	0.5	8	0	0	120	0	0	自动	/	/
15	弃磁	1	900	2	7	0	0	0	0	0	自动	/	/
16	吸磁	3	900	2	7	0	0	120	20	20	自动	/	/
17	清洗1	4	900	2	7	0	0	100	0	0	自动	/	/
18	清洗2	5	900	2	7	0	0	100	0	0	自动	/	/
19	干燥	6	100	0	7	8min		0	0	0	自动	/	/
20	洗脱	6	100	7	7	0	0	60	0	40	自动	/	/
21	弃磁	3	900	0.5	9	0	0	0	0	0	自动	/	/

方案 5：32C 通道核酸提取仪操作(2ml)

1. 按下表把洗涤液/样品等加到深孔板对应的孔中，把磁力外套和 48 孔圆孔板放到仪器中。

孔位	样品量	使用前加入
第1/7排孔	每孔加入： 666µl 血清、血浆或 其它待测液体样品	每孔加入： 40µl Proteinase K 800µl Buffer CXP (0~20%异丙醇)
第2/8排孔		
第3/9排孔		
第4/10排孔	1600 µl 洗涤液MAW1以及 50µl MPG2	
第5/11排孔	1600 µl 洗涤液MW2 以及 50µl MPG2	
第6/12排孔	60 µl 洗脱液EB	

2. 启动对应程序约 30 分钟后暂停。
3. 取出 48 圆孔板，第 1/7, 2/8,3/9 排孔，加入 300µl Buffer IP。
4. 把 48 孔板放回仪器中，继续执行程序，约 30 分钟后结束。
5. 取出 48 孔板和磁套，把 DNA 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	消化1	1	1400	3	7	0	0	0	0	0	自动	/	/
2	消化2	2	1400	5	7	0	0	0	0	0	自动	/	/
3	消化3	3	1400	5	6	10	0	0	0	0	自动	/	/
4	吸磁	4	1400	0.3	7	0	0	120	0	0	自动	/	/
5	结合1	1	1400	7	7	0	0	150	20	20	自动	/	/
6	结合2	2	1400	7	7	0	0	150	20	20	自动	/	/
7	结合3	3	1400	7	7	0	0	150	20	20	自动	/	/
8	弃磁	4	1400	2	7	0	0	0	0	0	自动	/	/
9	暂停	1	1400	0	0	暂停加液		0	0	0	自动	/	/
10	吸磁	5	1400	0.5	8	0	0	100	0	0	自动	/	/
11	结合	1	1700	8	7	0	0	150	20	20	自动	/	/
12	结合	2	1700	8	7	0	0	150	20	20	自动	/	/
13	结合	3	1700	6	7	0	0	0	0	0	自动	/	/
14	吸磁	4	1400	0.5	8	0	0	120	0	0	自动	/	/
15	弃磁	1	1700	2	7	0	0	0	0	0	自动	/	/
16	吸磁	3	1700	2	7	0	0	150	20	20	自动	/	/
17	清洗1	4	1400	3	7	0	0	120	0	0	自动	/	/
18	清洗2	5	1400	3	7	0	0	100	0	0	自动	/	/
19	干燥	6	100	0	7	10 min		0	0	0	自动	/	/
20	洗脱	6	100	7	6	0	0	60	0	40	自动	/	/
21	弃磁	3	900	0.5	9	0	0	0	0	0	自动	/	/

方案 6：4/24 通道核酸提取仪操作(4ml)

1. 按下表把洗涤液/样品等加到深孔板对应的孔中，把磁力外套和 24 孔矮板放到仪器中。

孔位	样品量	使用前加入
第1/7排孔	每孔加入： 2ml 血清、血浆或其它待测样品	每孔加入：100μl Proteinase K和2.4ml Buffer CXP（0~20%异丙醇）
第2/8排孔		
第3/9排孔	1000 μl 洗涤液MAW1以及 100μl MPG2	
第4/10排孔	5000 μl 洗涤液 MAW1 以及 100μl MPG2	
第5/11排孔	5000 μl 洗涤液 MW2	
第6/12排孔	90 μl 洗脱液EB	

2. 启动对应程序约 30 分钟后暂停。
3. 取出 24 孔板，第 1/7, 2/8 排孔，每孔加入 400µl Buffer IP；
4. 把 24 孔板放回仪器中，继续执行程序，约 30 分钟后结束。
5. 取出 24 孔板和磁套，把 DNA 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	消化1	1	4000	4	6	0	0	0	0	0	自动	1,2	50
2	消化2	2	4000	8	5	0	0	0	0	0	自动	1,2	50
3	消化3	1	4000	8	5	0	0	0	0	0	自动	1,2	50
4	消化4	2	4000	8	5	0	0	0	0	0	自动	1,2	50
5	吸磁	3	1000	0.3	7	0	0	150	0	0	自动	/	/
6	结合1	1	4200	8	7	0	0	250	20	20	自动	/	/
7	结合2	2	4200	8	7	0	0	250	20	20	自动	/	/
8	弃磁	3	1000	2	8	0	0	0	0	0	自动	/	/
9	暂停	1	4000	0	0	暂停加液		0	0	0	自动	/	/
10	吸磁	4	4500	0.5	8	0	0	150	0	0	自动	/	/
11	结合	1	4800	8	6	0	0	250	20	20	自动	/	/
12	结合	2	4800	8	6	0	0	250	20	20	自动	/	/
13	清洗1	4	4500	3	7	0	0	50	150	0	自动	/	/
14	清洗2	5	4500	3	7	0	0	50	150	0	自动	/	/
15	干燥	6	100	0	7	10 min		0	0	0	自动	/	/
16	洗脱	6	100	7	6	0	0	60	0	40	自动	/	/
17	弃磁	3	900	0.5	9	0	0	0	0	0	自动	/	/