

## MolPure® Magnetic FFPE DNA Kit

### 磁珠法 FFPE DNA 提取试剂盒

#### 产品信息

产品名称	产品货号	规格
MolPure® Magnetic FFPE DNA Kit	18371ES50	50 T

#### 产品描述

MolPure® Magnetic FFPE DNA Kit 适用于福尔马林固定、石蜡包埋的组织中提取 DNA。采用独特的磁珠和精心优化的缓冲体系，可最大限度的分离纯化高纯度 DNA。该试剂盒使用的脱蜡液，较之二甲苯更安全、简单快速；提取的基因组完整性好、纯度高，质量稳定可靠，适用于各种下游应用实验，如 PCR 和二代测序等。本产品可配合磁珠法自动化提取仪器和移液法自动化仪器使用，实现核酸的高通量提取。

#### 试剂盒组分

类别	编号	组分名称	18371ES50 (50 人份/盒)
Part I	18371-H	蛋白酶 K 溶液 (20mg/mL)	1 mL/支×1 支
	18371-A	磁珠悬浮液	1 mL/支×1 支
	18371-B	脱蜡液	20 mL/瓶×1 瓶
	18371-C	裂解液	10 mL/瓶×1 瓶
Part II	18371-D	结合液	20 mL/瓶×1 瓶
	18371-E	洗涤液 A	16 mL/瓶×1 瓶 (需加 24mL 乙醇)
	18371-F	洗涤液 B	16 mL/瓶×1 瓶 (需加 64mL 乙醇)
	18371-G	洗脱液	5 mL/瓶×1 瓶

#### 运输与保存方法

Part I 组分常温运输，4°C 保存，有效期 12 个月。

Part II 组分常温运输，常温保存，有效期 12 个月。

#### 注意事项

1. 注意观察各溶液是否有析出或浑浊（尤其冬季等室温为低温环境时），可 37°C 水浴至溶液澄清，避免影响使用效果。
2. 磁珠应避免置于低于 4°C 环境，避免反复冻融，否则会导致 DNA 的产量下降。
3. 洗脱时可能存在磁珠残留，吸取样本时应尽量避免吸入磁珠。
4. 为了您的安全和健康，请穿实验服并佩戴一次性手套操作。
5. 本产品仅作科研用途。

#### 实验前准备

1. 自备设备和试剂：磁性分离架、32 或 96 通道自动化核酸提取仪器，水浴锅或金属浴，漩涡振荡器，1.5 mL 离心管，无水乙醇等。
2. 首次使用前，在洗涤液 A（18371-E）和洗涤液 B（18371-F）瓶中加入标签注明体积的无水乙醇，充分混匀后使用，并做好标记。每次使用后将瓶盖盖紧，以保持瓶中的乙醇含量。

## 一、手工提取操作方法

使用前，请先在洗涤液 A 和洗涤液 B 中加入无水乙醇，加入体积请按照瓶上的标签。

### 1. 样本处理

a 石蜡切片：取石蜡切片（5-10  $\mu\text{m}$  厚，1 $\times$ 1  $\text{cm}^2$  大小）5-8 张。

b 石蜡包埋样本：用手术刀刮取约 10 mg 的组织样本（尽量去除多余的石蜡）。

**注意：**如果样品表面暴露于空气中，请将接触空气的 2-3 片弃掉不用。

c 福尔马林等固定液中的样本：取约 10 mg 样本，用手术刀切成小块，置于 1.5 ml 离心管中，加入 500  $\mu\text{l}$  PBS 溶液(pH7.4) 涡旋振荡，12,000 rpm( $\sim$ 13,400 $\times$ g)室温离心 1 min，弃上清，重复 3 次。

2. 将样本置于 1.5 mL 离心管中，加入 400  $\mu\text{L}$  脱蜡液，200  $\mu\text{L}$  裂解液，20  $\mu\text{L}$  蛋白酶 K，涡旋混匀 10 秒。

3. 65 $^{\circ}\text{C}$  孵育 1 小时，直至样品完全裂解。该步骤可能会出现样本无法完全裂解的情况，直接进入下一步骤即可。

4. 90 $^{\circ}\text{C}$  孵育 1 小时。

**注意：**该步骤应严格按照说明书给出的加热温度和时间进行操作。

5. 12000 rpm 离心 1min 后，使用 200  $\mu\text{L}$  枪头沿管壁小心吸取下层 200  $\mu\text{L}$  孵育产物转移至新的 1.5 mL 离心管。

6. (选做) 若残留 RNA 对后续实验有影响，可加入 5  $\mu\text{L}$  RNase A 溶液(100 mg/mL)（自备，Yeasten Cat No.10406），振荡混匀，室温放置 5-10 min。

7. 加入 400  $\mu\text{L}$  结合液，涡旋混匀。

8. 加入 20  $\mu\text{L}$  磁珠悬浮液，涡旋混匀 20 秒，置于旋转混匀仪上孵育 10 min，或静置 10-15min，静置期间每隔 2-3 min 涡旋混匀 20 秒。

**注意：**磁珠悬浮液使用前需充分涡旋混匀，保证磁珠彻底重悬，每加样几次后需充分摇匀后继续加样。

9. 短暂离心后，将离心管置于磁力架上静置，待磁珠完全吸附，弃去上清液。

10. 加入 700  $\mu\text{L}$  洗涤液 A（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），振荡混匀 1min，确保磁珠分散。

11. 短暂离心后，将离心管置于磁力架上静置，待磁珠完全吸附，小心吸取液体。

12. 加入 700  $\mu\text{L}$  洗涤液 B（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），振荡混匀 1min，确保磁珠分散。

13. 短暂离心后，将离心管置于磁力架上静置，待磁珠完全吸附，小心吸取液体。

14. 重复步骤 12 和 13。

15. 尽量吸出残留的液体，将离心管置于磁力架上晾干 5-10 分钟，或 60 $^{\circ}\text{C}$  加热晾干，直至乙醇挥发完。

**注意：**晾干至磁珠表面刚出现龟裂即可，过度干燥不利于核酸洗脱。

16. 将离心管从磁力架上取下，加入 50-100  $\mu\text{L}$  洗脱液，振荡混匀，如有磁珠结块可用移液器吹打。短暂离心后，60 $^{\circ}\text{C}$  孵育 5 分钟，期前可振荡混匀以提高洗脱效果。

17. 短暂离心后，将离心管放置于磁力架上静置，待磁珠完全吸附，小心将 DNA 溶液转移至新的离心管中，注意不要吸到磁珠。

18. 核酸溶液保存于-20 $^{\circ}\text{C}$ ，长期保存需放置于-80 $^{\circ}\text{C}$ 。

## 二、半自动化提取操作方法

配套自动化仪器使用，以奥盛 Auto-Pure32A 自动核酸提取仪为例。

### 1. 样本处理

a. 石蜡切片：取石蜡切片（5-10  $\mu\text{m}$  厚，1 $\times$ 1  $\text{cm}^2$  大小）5-8 张。

b. 石蜡包埋样本：用手术刀刮取约 10 mg 的组织样本（尽量去除多余的石蜡）。

**注意：**如果样品表面暴露于空气中，请将接触空气的 2-3 片弃掉不用。

c. 福尔马林等固定液中的样本：取约 10 mg 样本，用手术刀切成小块，置于 1.5 ml 离心管中，加入 500  $\mu\text{l}$  PBS (pH7.4) 涡旋振荡，12,000 rpm( $\sim$ 13,400 $\times$ g)室温离心 1 min,弃上清，重复 3 次。

2. 将样本装于 1.5 mL 离心管中，加入 400  $\mu\text{L}$  脱蜡液，200  $\mu\text{L}$  裂解液，20  $\mu\text{L}$  蛋白酶 K，涡旋混匀 10 秒。

3. 65 $^{\circ}\text{C}$  孵育 1 小时，直至样品完全裂解。

4. 90 $^{\circ}\text{C}$  孵育 1 小时。

**注意：**该步骤应严格按照说明书给出的加热温度和时间进行操作。

5. 短暂离心后，取下层 200  $\mu$ L 孵育产物转移至新的 1.5 mL 离心管。
6. (选做) 若残留 RNA 对后续实验有影响，可加入 5  $\mu$ L RNase A (100 mg/mL) (自备，Yeasen Cat No.10406) 溶液，振荡混匀，室温放置 5-10 min。
7. 按照下表向 96 孔深孔板中加入相应试剂：

孔位	试剂名称	用量/孔
1/7 列	预处理样本	200 $\mu$ L
	结合液	400 $\mu$ L
2/8 列	洗涤液 A	700 $\mu$ L
	洗涤液 B	700 $\mu$ L
3/9 列	磁珠悬浮液	20 $\mu$ L
	洗涤液 B	700 $\mu$ L
4/10 列	洗涤液 B	700 $\mu$ L
5/11 列	空	空
6/12 列	洗脱液	70 $\mu$ L

**注：**磁珠悬浮液使用前需在涡旋混匀仪上充分重悬或充分颠倒混匀，在一次性加样 4-5 次后，建议再次混匀后再行加样。

8. 按照提取仪的位置，正确安放上述 96 孔预装板，并放置 8 联磁棒套。
9. 运行如下程序，程序结束后，将洗脱液转移至新的离心管中，溶液可置于 -20 $^{\circ}$ C 短期保存，-80 $^{\circ}$ C 长期保存。

奥盛 Auto-Pure32A 的提取仪器的提取程序

步骤	孔位	混合时间(min)	吸磁时间(sec)	等待时间(min)	容积( $\mu$ L)	混合速度(1-10)	温度( $^{\circ}$ C)	混合位置(0-100%)	混合幅度(1-100%)	吸磁位置(0-100%)	吸磁速度(1-10)
移磁珠	3	0.3	60	0	700	5	/	0	80	0	1
结合	1	15	80	0	600	3	/	0	80	0	1
清洗 1	2	2	30	0	700	7	/	0	80	0	1
清洗 2	3	2	30	0	700	5	/	0	80	0	1
清洗 3	4	1	30	2.5	700	5	/	0	80	0	1
洗脱	6	6	0	0	70	4	65	0	80	0	1
洗脱	6	2	80	0	70	7	65	0	80	0	1
弃磁珠	3	0.2	0	0	700	5	/	0	80	0	1

如要配套其他主流自动化仪器使用，程序可向翌圣生物技术支持部获取。