

目 录

简介	2
原 理	2
试剂盒组成	3
保质期	3
准备工作	4
方案 1:500 μ l 样品病毒总核酸的手工单管式抽提方案	5
方案 2:500 μ l 样品病毒总核酸手工 96 孔板抽提方案	5
方案 3:500 μ l 样品病毒总核酸的移液工作站抽提方案	7
常见问题回答	8

版本: 2017-01

简介

MagPure Viral Nucleic Acid Midi LQ Kit 为 500 μ l 血清、血浆、组织匀浆液上清、拭子浸泡液等液体样品的病毒总核酸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。获得的病毒 DNA/RNA 可直接用于各种病毒检测等实验。

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 LQ 系统采用的溶液体系和纯化方式是专门为自动化移液平台和手工提取而设计的。

MagPure Viral Nucleic Acid Midi 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(Nuclease Free Water)洗脱。洗脱的 DNA 可直接用于 PCR、病毒检测等实验。

组 成

MagPure Viral Nucleic Acid Midi LQ Kit

产品编号	R6663-01	R6663-02
纯化次数	48 次	96 次
MagPure Particles N6	3.0 ml	5.5 ml
Carrier RNA	310 ug	310 ug
Proteinase K	60 mg	110 mg
Protease Dissolve Buffer	5 ml	15 ml
Buffer MLBN	60 ml	120 ml
Buffer MW1 *	22 ml	44 ml
Buffer MW2 *	20 ml	50 ml
Nuclease Free Water	10 ml	30 ml
说明书	1	1

注：Buffer MW1, Buffer MW2 使用前须用无水乙醇进行稀释。

保 质 期

MagPure Viral Nucleic Acid Midi LQ Kit 除 MagPure Particle N6 和 Proteinase K 外，可在室温下(15-25℃)干燥保存 18 个月。长期保存需置于 2-8℃。MagPure Particle N6 和 Proteinase K 干粉在室温下运输。收到试剂盒后，把 Proteinase K 保存于-20℃。MagPure Particle N6 保存于 2-8℃。

准备工作

- 无水乙醇
- 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。Proteinase K 干粉在 2-8℃ 保存一年, 但溶解的 Proteinase K 须分装保存于-20℃。反复冻溶 Proteinase K 会影响其活性。
- 加入 310ul 的 Nuclease Free Water 至 Carrier RNA 管子中, 至终浓度为 1ug/ul。涡旋让 Carrier RNA 充分溶解, 然后保存于-20℃。
- Buffer MW1 使用前, 须按瓶子标签所示, 加入无水乙醇进行稀释。
- Buffer MW2 使用前, 须按瓶子标签所示, 加入无水乙醇进行稀释。
- MagPure ParticlesN6 初次使用时, 必须剧烈摇晃 1~2 分钟让磁珠充分分散。
- Nunc U96 DeepWell Plate(Cat.No. 260251) [高通量]
- 96 孔振荡仪, 如 IKA MS3 Vortex, Eppendorf MixMate [手工高通量]
- 单管磁力架[手工单管]或 96 孔磁力架, MG96-1 [手工高通量]

方案 1. 500 μ l 血清/血浆等病毒总核酸的手工单管式抽提方案

该方案适合于从 500 μ l 血清、血浆、组织匀浆液上清、拭子浸泡液等样品中提取病毒总核酸。

1. 在 2.0ml 离心管中，加入 50 μ l Proteinase K、50 μ l MagPure Particle N6 和(可选)2 μ l Carrier RNA。

[为减少加液的次数，Proteinase K、MagPure Particle N6 和 Carrier RNA 可预先混合。该混合液可在 2~8 $^{\circ}$ C 放置一天。]

2. 加入 1ml Buffer MLBN 至离心管中。
3. 转移 500 μ l 血清、血浆、组织匀浆液上清、拭子浸泡液等样品至含蛋白酶 K/磁珠/裂解液的离心管中。涡旋混匀 15 秒。室温放置 5~10 分钟，其间颠倒混匀数次。转移至磁力架上，静置 3 分钟吸附磁珠。小心吸弃所有溶液。
4. 加入 600 μ l Buffer MW1，涡旋混匀 10 秒。转移至磁力架上，静置~2 分钟吸附磁珠。小心吸弃所有溶液。
5. 加入 600 μ l Buffer MW2，涡旋混匀 10 秒。转移至磁力架上，静置~2 分钟吸附磁珠。小心吸弃所有溶液。
6. 重复第 5 步一次。
7. 短暂离心，收集管壁上的液滴。转移至磁力架上，小心吸弃所有溶液。
8. 空气干燥 10 分钟。
9. 加 50~100 μ l Nuclease Free Water，吸打或涡旋打散磁珠。室温振荡混匀 6~8 分钟。短暂离心收集管壁上的液滴。转移至磁力架上，静置 2 分钟。
10. 转移 DNA/RNA 溶液至新的 1.5ml 离心管中。

方案 2. 500 μ l 血清/血浆等病毒总核酸手工 96 孔板抽提方案

该方案适合于从 96 个 500 μ l 血清、血浆、组织匀浆液上清、拭子浸泡液等样品中提取病毒总核酸。

1. 在 2.2ml Nunc 96 孔板深孔板中, 每孔加入 50 μ l Proteinase K、50 μ l MagPure Particle N6 和(可选)2 μ l Carrier RNA, 以及 1m Buffer MLBN。

[为减少加液的次数, Proteinase K、MagPure Particle N6 和 Carrier RNA 可预先混合。该混合液可在 2~8 $^{\circ}$ C 放置一天。Carrier RNA 可省略, 或根据实验结果进行调整]

2. 转移 500 μ l 血清、血浆、组织匀浆液上清、拭子浸泡液等样品至含蛋白酶 K/磁珠/裂解液的孔中, 并吸打混匀 7~10 次, 贴上封口膜, 500~700rpm 振荡混匀 15 分钟。
3. 转移至磁力架上, 静置 15 分钟吸附磁珠。去除封口膜, 将磁力架和 96 孔板扣在一起, 反转 180 度倒弃废液, 然后反扣于一叠吸水纸 1 分钟吸尽残液。【在反转倒废液时, 让磁力架和 96 孔板紧扣一起不要松动, 以防止磁珠的丢失。废液倒完后, 反扣于吸水纸上吸尽孔口的残液, 不要让溶液回流到孔中。】
4. 加入 600 μ l Buffer MW1, 900rpm 振荡混匀 1 分钟。转移至磁力架上吸附 5 分钟。将磁力架和 96 孔板扣在一起, 反转 180 度倒弃废液, 然后反扣于一叠吸水纸 1 分钟吸尽残液。
5. 加入 600 μ l Buffer MW2, 900rpm 振荡混匀 1 分钟。转移至磁力架上吸附 5 分钟。将磁力架和 96 孔板扣在一起, 反转 180 度倒弃废液, 然后反扣于一叠吸水纸 1 分钟吸尽残液。
6. 重复第 5 步一次。
7. 让磁力架和 96 孔板反扣于吸水纸 5 分钟彻底吸弃残液。正放, 空气干燥 15 分钟。
8. 加 50~100 μ l Nucleaser Free Water, 1,200rpm 振荡混匀 1 分钟。静置 6 分钟。转移至磁力架上静置 3 分钟。转移 DNA/RNA 溶液至新的 96 孔板中。

方案 3. 500 μ l 病毒总核酸的移液工作站抽提方案

该方案适合于从 500 μ l 血清、血浆、组织匀浆液上清、拭子浸泡液等样品中提取病毒总核酸。由于不同的移液工作站的设置和配件都有所不同，请根据平台进行调整，以下流程是根据 Haminton 移液工作站而设计。

1.]在 2.2ml Nunc 96 孔板深孔板中，每孔加入 50 μ l Proteinase K、50 μ l MagPure Particle N6 和(可选)2 μ l Carrier RNA，以及 1m Buffer MLBN。

[为减少加液的次数，Proteinase K、MagPure Particle N6 和 Carrier RNA 可预先混合。该混合液可在 2~8 $^{\circ}$ C 放置一天。Carrier RNA 可省略，或根据实验结果进行调整]

2. 转移 500 μ l 血清或血浆等样品至深孔板的孔中，吸打混匀 10~15 次。~50 $^{\circ}$ C 低速振荡(400~600rpm)温育 15 分钟。【缓慢振荡混匀以减少气溶胶产生】
3. 转移至磁力架上，静置 10~15 分钟吸附磁珠。吸弃所有溶液。
4. 加入 600 μ l Buffer MW1，700rpm 振荡 1 分钟。转移至磁力架上，静置 3~5 分钟吸附磁珠。小心吸弃所有溶液。
5. 加入 600 μ l Buffer MW2，700rpm 振荡 1 分钟。转移至磁力架上，静置 3~5 分钟吸附磁珠。小心吸弃所有溶液。
6. 重复第 5 步一次。【这一步吸弃溶液时，要缓慢吸取以确保彻底吸弃溶液】
7. 55~60 $^{\circ}$ C 干燥 6 分钟。
8. 加入 100 μ l Nuclease Free Water 至样品中，~50 $^{\circ}$ C，800rpm 振荡 6 分钟。
9. 转移至磁力架上，静置 5 分钟。转移 DNA/RNA 溶液至新的 96 孔板中。

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
核酸有颜色	
Proteinase K 与 Buffer MLBN 不能预先混合	Proteinase K 与 Buffer MLBN 不能预先混合。样品与蛋白酶 K 先进行混匀后，才能加入 Buffer MLBN。
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/RNA 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 MW1/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，加入正确数量的乙醇。
MagPure Particle N6 没有充分打散	初次使用 MagPure Particle N6 时，必须剧烈振荡 1-2 分钟以充分打散 MagPure Particle N6。
洗脱体积不够	增加洗脱体积以提高洗脱效率