

# 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 $\mu$ l 游离 DNA 的手工富集方案	5
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	7
方案 4：0.30ml 游离 DNA 的机提富集方案	5
方案 5：0.6ml 游离 DNA 的机提富集提方案	7
方案 5：4ml 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(Buffer TE)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°C)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-20°C。MagPure Particle G 保存于 2-8°C。

## 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 x 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	250 ml
Buffer IP	15 ml	30 ml	120 ml
Buffer MW1 *	13 ml	26 ml	110 ml
Buffer MW2 *	10 ml	20 ml	2 x 50 ml
Elution Buffer	10 ml	10 ml	30 ml
说明书	1	1	1

注：Buffer MW1, 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。Proteinase K 干粉在 2-8°C 保存一年, 但溶解的 Proteinase K 须分装保存于 -20°C。反复冻溶 Proteinase K 会影响其活性。
- Buffer MW1/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。

## 方案 1. 500 $\mu$ l 游离 DNA 富集提取方案

1. 在 1.5ml 离心管中，加入 25 $\mu$ l Proteinase K 和 15 $\mu$ l 磁珠液 MPG2，然后加入 500 $\mu$ l 血清或血浆样品混匀。
2. 加入 500 $\mu$ l Buffer CXP 以及 0~125 $\mu$ l 异丙醇，室温颠倒混匀 15~20 分钟，磁力架静置 1 分钟吸附磁珠，转移上清液(含小片段 DNA)至新的离心管中。
  - 不加入异丙醇时，可以去除>1000bp 的片段。
  - 加入 0.1 倍样品体积异丙醇 (50 $\mu$ l)，可以去除>500bp 片段。
  - 加入 0.15 倍样品体积异丙醇 (75 $\mu$ l)，可以去除>400bp 片段。
  - 加入 0.2 倍样品体积异丙醇 (100 $\mu$ l)，可以去除>300bp 片段。
  - 加入 0.25 倍样品体积异丙醇 (125 $\mu$ l)，可以去除>250bp 片段。条件确定后，异丙醇和 Buffer CXP 可以按比例预先混匀，然后按比例加入。
3. 加入 20 $\mu$ l 磁珠液 MPG2 和 200 $\mu$ l Buffer IP 至上清液，室温颠倒混匀 5 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 周。
4. 加入 500 $\mu$ l Buffer MW1，混匀 10 秒。磁力架静置 1 分钟，小心吸弃所有溶液。
5. 加入 500 $\mu$ 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 $\mu$ 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 10 分钟。
8. 加 40~50 $\mu$ l 预热的 Elution Buffer，室温振荡温育 5 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 5ml 离心管中，加入 100 $\mu$ l Proteinase K 和 2 ml 血清或血浆，混匀，然后加入 2ml Buffer CXP 混匀，55 度温育 30 分钟。
2. 加入 0~500 $\mu$ l 异丙醇和 60 $\mu$ l 磁珠液 MPG2，室温颠倒混匀 6 分钟，磁力架静置 3 分钟吸附磁珠，转移上清液(含小片段 DNA)至新的离心管中。
  - 不加入异丙醇时，可以去除>750bp 的片段。
  - 加入 0.1 倍样品体积异丙醇 (200 $\mu$ l)，可以去除>500bp 片段。
  - 加入 0.15 倍样品体积异丙醇 (300 $\mu$ l)，可以去除>400bp 片段。

- 加入 0.2 倍样品体积异丙醇 (400 $\mu$ l), 可以去除>300bp 片段。
  - 加入 0.25 倍样品体积异丙醇 (500 $\mu$ l), 可以去除>250bp 片段。
- 条件确定后, 异丙醇和 Buffer CXP 可以按比例预先混匀。
3. 加入 80 $\mu$ l 磁珠液 MPG2 和 800 $\mu$ l Buffer IP 至上清液, 室温颠倒混匀 6 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 MW1, 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 MW2, 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. 短暂离心, 小心吸弃所有溶液, 55 度烘干 10 分钟。
  8. 加 60~75 $\mu$ l 预热的 Elution Buffer, 室温振荡温育 5~10 分钟溶解 DNA。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. 4ml 游离 DNA 富集提取方案

1. 在 15ml 离心管中, 加入 200 $\mu$ l Proteinase K 和 4 ml 血清或血浆混匀, 加入 4ml Buffer CXP 混匀, 55 度温育 30 分钟。
2. 加入 0~1ml 异丙醇和 120 $\mu$ 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, 转移上清液[含小片段 DNA]至新的离心管中。
  - 不加入异丙醇时, 可以去除>750bp 的片段。
  - 加入 0.1 倍样品体积异丙醇 (400 $\mu$ l), 可以去除>500bp 片段。
  - 加入 0.15 倍样品体积异丙醇 (600 $\mu$ l), 可以去除>400bp 片段。
  - 加入 0.2 倍样品体积异丙醇 (800 $\mu$ l), 可以去除>300bp 片段。
  - 加入 0.25 倍样品体积异丙醇 (1000 $\mu$ l), 可以去除>250bp 片段。条件确定后, 异丙醇和 Buffer CXP 可以按比例预先混匀。
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 $\mu$ l 磁珠液 MPG2, 室温颠倒混匀 6 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 6 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 MW1，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. 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。短暂离心，小心吸弃所有溶液，55 度烘干 10 分钟。
9. 加 70~80 $\mu$ l 预热的 Elution Buffer，室温振荡温育 5~10 分钟溶解 DNA。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 4：32/48 通道核酸提取仪操作(300 $\mu$ l)

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	300 $\mu$ l 样品	15 $\mu$ l Proteinase K 和 0.1 $\mu$ g Carrier RNA (另外订购) 300 $\mu$ l Buffer CXP 和以及 0~75 $\mu$ l 异丙醇(见方案 1 中异丙醇与片段的关系)
第 2/8 排孔	500 $\mu$ l Water	
第 3/9 排孔	500 $\mu$ l 洗涤液 MW1	
第 4/10 排孔	500 $\mu$ l 洗涤液 MW2 以及 10 $\mu$ l MPG2	
第 5/11 排孔	500 $\mu$ l 洗涤液 MW2	
第 6/12 排孔	80 $\mu$ l 洗脱液 EB	

2. 启动程序约 20 分钟暂停。取出 96 孔板，在第 1/7 孔中加入 120 $\mu$ l Buffer IP 和 15 $\mu$ l MPG2。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。
3. 把 96 孔板放回仪器中，继续执行程序，约 20 分钟后暂停结束。
4. 取出 96 孔板和磁力外套。把 DNA 转移至 1.5ml 离心管中，把产物保存于 -20~-8 $^{\circ}$ C。

序号	名称	孔位	容积	混合时间		等待		磁吸时间			加热		
				时间	速度	时间	位置	升降	液面	底部	吸磁	板位	温度
1	吸磁	4	500	0.3	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
2	结合	1	700	10	7	0	0	120s	20	20	自动	1	45
3	清洗	2	500	1	8	0	0	0	0	0	自动	/	/
4	暂停	2	500	0	8	暂停		0	0	0	自动	/	/
5	结合	1	900	6	6	0	0	120s	20	20	自动	/	/
6	清洗1	3	500	1	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
7	清洗2	4	500	0.5	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
8	清洗3	5	500	0.5	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/

9	干燥	5	500	0	0	6	晾干	0	0	0	自动	/	/
10	洗脱	6	100	5	9	0	0	60s	0	40	自动	/	/
11	弃磁	5	500	0.5	9	0	0	0	0	0	自动	/	/

### 方案 5：32/48 通道核酸提取仪操作(600 $\mu$ l)

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	300 $\mu$ l 样品	15 $\mu$ l Proteinase K和0.1 $\mu$ g Carrier RNA (另外订购) 300 $\mu$ l Buffer CXP和以及0~60 $\mu$ l异丙醇(见方案1中异丙醇与片段的关系)
第2/8排孔	300 $\mu$ l 样品	
第3/9排孔	750 $\mu$ l 洗涤液MW1	
第4/10排孔	750 $\mu$ l 洗涤液 MW2 以及 15 $\mu$ l MPG2	
第5/11排孔	750 $\mu$ l Water	
第6/12排孔	50 $\mu$ l 洗脱液EB	

- 启动对应程序约 20 分钟后暂停。取出 96 孔板，第 1/7 排孔，加入 120 $\mu$ l Buffer IP 和 20 $\mu$ l MPG2；在第 2/8 孔中，加入 120 $\mu$ l Buffer IP。
- 把 96 孔板放回仪器中，继续执行程序，约 30 分钟后结束。
- 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 $^{\circ}$ C。

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	吸磁	4	700	0.3	7	0	0	60s	0	0	自动	/	/
2	结合	1	700	2	7	0	0	0	0	0	自动	1,2	45
3	结合	2	700	2	7	0	0	0	0	0	自动	1,2	45
4	结合	1	700	8	7	0	0	120s	20	20	自动	1,2	45
5	结合	2	700	8	7	0	0	120s	20	20	自动	1,2	45
6	清洗	5	750	1	8	0	0	0	0	0	自动	/	/
7	暂停	5	500	0	8	暂停		0	0	0	自动	/	/
8	结合	1	900	6	6	0	0	120s	20	20	自动	/	/
9	结合	2	900	6	6	0	0	120s	20	20	自动	/	/
10	清洗	3	750	2	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
11	清洗	4	750	1	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
13	干燥	6	500	0	0	8	晾干	0	0	0	自动	/	/
14	洗脱	6	100	5	9	0	0	60s	0	40	自动	/	/
15	弃磁	4	500	0.5	9	0	0	0	0	0	自动	/	/

## 方案 6: 24 通道核酸提取仪操作(4000 $\mu$ l)

1. 按下表把洗涤液/样品等加到深孔板对应的孔中。

孔位	板位	样品量	使用前加入
样品板 1	1	2000 $\mu$ l 样品	加入 100 $\mu$ l Proteinase K 和 0.3 $\mu$ g Carrier RNA 2.0ml Buffer CXP 和 0~400 $\mu$ l 异丙醇(见方案 3 中异丙醇与片段的关系)
样品板 2	2	2000 $\mu$ l 样品	
除 DNA 板	3	3000 $\mu$ l Water	
清洗板 1	4	4000 $\mu$ l 洗涤液 MW1	
清洗板 2	5	4000 $\mu$ l 洗涤液 MW2 以及 80 $\mu$ l MPG2	
洗脱板	6	80 $\mu$ l 洗脱液 EB	

2. 打开机器，把磁力外套和 96 孔板放到仪器中。启动对应程序，约 25 分钟后暂停。
3. 取出样品板 1，每孔加入 800  $\mu$ l Buffer IP 和 80 $\mu$ l MPG2。
4. 取出样品板 2，每孔加入 800  $\mu$ l Buffer IP。
5. 把 96 孔板放回仪器中，继续执行程序，约 30 分钟后结束。
6. 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 $^{\circ}$ C。

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	吸磁	5	4 ml	0.5	7	0	0	90s	0	0	自动	/	/
2	结合 1	1	4 ml	3	6	0	0	0	0	0	自动	1	45
3	结合 2	2	4 ml	3	6	0	0	0	0	0	自动	2	45
4	结合 1	1	4 ml	6	6	0	0	120s	20	20	自动	1	45
5	结合 2	2	4 ml	6	6	0	0	120s	20	20	自动	2	45
6	弃 DNA	3	3 ml	2	6	0	0	120	20	20	自动	/	/
7	暂停	1	4 ml	0	6	暂停		0	0	0	自动	/	/
8	结合 1	1	5 ml	7	5	0	0	120s	20	20	自动	/	/
9	结合 2	2	5 ml	7	5	0	0	120s	20	20	自动	/	/
10	清洗 1	4	4 ml	2	6	0	0	90s	0	0	自动	/	/
11	清洗 2	5	4 ml	2	6	0	0	90s	0	0	自动	/	/
13	干燥	6	50	0	0	9	晾干	0	0	0	自动	/	/
14	洗脱	6	50	6	9	0	0	60s	0	40	自动	/	/
15	弃磁	3	4 ml	0.5	9	0	0	0	0	0	自动	/	/