

# 操作手册

## 血清/血浆游离 DNA 提取试剂盒 (磁珠法)

Catalog No. TB476-48 (1mlx48 次反应)

### Highlights

- 可从 10ml 以内的血清/血浆，1ml 以内的羊水或脑脊液中提取到高纯度的游离 DNA。
- 最小仅 15 $\mu$ l 洗脱体积。
- 获得的 DNA 产量高、纯度好，可以直接用于酶切、PCR、高通量测序等分子生物学实验。

Ver.1.2.8

## 产品组成:

试剂盒组成	保存	48 次
蛋白酶 K 溶液	-20℃	2 x 1 ml
CF DNA 消化液	室温	15 ml
CF DNA 结合液	室温	15 ml
CF DNA 洗涤液	室温	80 ml
DNA 洗脱液	室温	5 ml
游离 DNA 纯化磁珠	室温	600 $\mu$ l

**Note** –售出后一年内产品质量是可以保证。试剂已经过大量的常规检测来保证其可操作性。此产品仅供研究并且需要由专业人员来使用。试剂盒中的部分试剂是有刺激性的。请带好手套和防护眼镜。

## 注意事项:

- 环境温度低时 CF DNA 消化液或者 CF DNA 结合液可能出现析出和沉淀，可以在 37℃ 水浴几分钟帮助重新溶解，**恢复澄清透明后冷却到室温**即可使用。
- 蛋白酶 K 及其保存液可常温运输。

## 特性:

- 样品种类:** 血清，血浆，羊水和脑脊液（CSF）
- 处理的体积量:** 血浆- 单次离心：最多 3ml 两次离心：最多 10ml  
血清- 最多 10ml  
羊水- 最多 1ml  
脑脊液- 最多 1ml
- DNA 纯度:** 获得的 DNA 产量高、纯度好，可以直接用于 qPCR 高通量测序等各种分子生物学实验。
- DNA 回收情况:** 回收的 DNA $\geq$ 50bp(本试剂盒针对无细胞的 DNA 提取经过优化)，总量根据不同的样品个体差

异可能会比较大。一般从血清或血浆中提取到的 DNA 浓度在 1-100 ng/ml。

- **需要的仪器设备:** 磁力架，水浴锅或者金属浴（55℃），磁力架，微型离心机。

## 操作步骤:

### 从 1ml 的样品中提取游离 DNA

除非特殊说明，一般常温（15-30℃）进行以下操作步骤。

以下步骤以 1ml 血浆，血清或其他生物液体样品为例，当样品量发生变化的时候，只需要等比例的调整 CF DNA 消化液，蛋白酶 K 和 CF DNA 结合液，磁珠的用量就可以。

1. 添加 250μl 的 CF DNA 消化液到每 1ml 的样品中，混匀。

2. 添加 40μl 的蛋白酶 K,混匀。

3. 在 37℃下消化 30 分钟。

(如样品保存在 Streck-DNA 保存管中，则在 55℃下消化 15 分钟，37℃下消化 15 分钟)

4. 添加 250μl 的 CF DNA 结合液到步骤 3 中消化的样品中，混匀。

5. 添加混匀的游离 DNA 纯化磁珠 10μl 到上述样品中，以 30RPM 的速度上下颠倒混匀 20 分钟，以便磁珠很好的与游离 DNA 结合。

孵育结束后可短暂离心以去除管盖及内壁的液体残留。

样品体积	1ml	2ml	5 ml	10 ml
CF DNA 消化液	250μl	500μl	1.25 ml	2.5 ml
蛋白酶 K	40μl	80μl	200μl	400μl
混匀 孵育 30 分钟				
CF DNA 结合液	250μl	500μl	1.25 ml	2.5 ml
游离 DNA 纯化磁珠	10μl	20μl	50μl	100μl
总体积	1.55ml	3.1ml	7.75ml	15.5 ml

针对不同样品体积的快速操作表

6. 将含有上述混合物的离心管转移到一个磁力架上，静置 2-5 分钟，直到磁珠完全沉淀下来，吸弃上清液。将离心管从磁力架上移走。
7. 添加 800μl 的 CF DNA 洗涤液到离心管中，短暂涡旋，混匀 1 分钟，使磁珠充分悬浮在 CF DNA 洗涤液中。

将悬液全部转移到一个干净的 1.5ml 离心管内。

8. 将 1.5ml 离心管转移到一个磁力架上，静置 2-5 分钟，直到磁珠沉淀下来，吸弃上清液。将 1.5ml 离心管从磁力架上移走。
9. 添加 300 $\mu$ l CF DNA 洗涤液到 1.5ml 离心管中，混匀 1 分钟。将 1.5ml 离心管转移到一个磁力架上，直到磁珠沉淀下来，吸弃上清液。将 1.5ml 离心管从磁力架上移走。
10. 将 1.5ml 离心管在室温下放置 5-10 分钟自然晾干磁珠。（如乙醇残留会对纯度有较大影响，如过度干燥则会影响洗脱效率）
11. 添加 $\geq 15\mu$ l 的 DNA 洗脱液到 1.5ml 离心管中重悬磁珠，混匀磁珠 1-2 分钟，将 1.5ml 离心管移到一个磁力架上，放置 2-3 分钟直到磁珠完全沉淀下来。
12. 将上清（游离 DNA）转到一个干净的 1.5ml 离心管内。

注意：一般从血清血浆中提取的 DNA 总量会比较低，不推荐使用 Nanodrop 进行检测。可以使用 qPCR, Tapestation 或者 Qubit 等进行 DNA 的定量。