

Circulating DNA Kit

游离DNA提取试剂盒

目录号DHYC06

试剂盒组成

Component	DHYC06-01 (50 preps)	DHYC06-02 (100 preps)
Buffer VL	15 ml	25 ml
Buffer WB1	25 ml	50 ml
Buffer WB2	13 ml	25 ml
Buffer EB	10 ml	20 ml
Proteinase K (20 mg/ml)	1 ml	1 ml x 2
Spin Columns AC with Collection Tubes	50	100

第一次使用前按说明加指定量无水乙醇

保存方法

室温（15-30℃）保存。

产品介绍

本试剂盒适合从新鲜或冷冻的血清、血浆、淋巴液等无细胞体液中分离纯化游离 DNA。采用优化的缓冲体系使裂解液中的 DNA 高效特异的结合到硅基质离心吸附柱上，而其他杂质可流过膜，PCR 和其他酶促反应的抑制剂可通过两步洗涤被有效去除，最后使用低盐缓冲液或水洗脱，即可获得高纯度 DNA。得到的游离 DNA 用于 PCR、荧光定量 PCR 和二代测序等分子生物学实验。

注意事项

- 1 开始试验前请将需要的水浴或金属浴预热至 56℃ 备用。
- 2 第一次使用 Buffer WB2 前按照试剂瓶标签的说明加入指定量无水乙醇，并及时打勾标记，以免重复加入。
- 3 Buffer EB 中不含有螯合剂 EDTA 成分，不影响下游酶切、连接等反应。也可以使用水洗脱，但应该确保 pH 在 7.5-8.5 之间，pH 过低影响洗脱效率。

操作步骤 (以下所有离心步骤均在室温下进行)

- 1 取 200 μ l 血清、血浆或无细胞体液到一个离心管中，如不足 200 μ l，加 1xPBS 补足至 200 μ l。
 - 2 加入 **20 μ l Proteinase K** 溶液，涡旋混匀。
 - 3 加入 **200 μ l Buffer VL**，涡旋振荡 15 sec，充分混匀，56°C 放置 10 min，并不时摇动样品。
 - 4 加入 **200 μ l 无水乙醇** (如果室温高于 25°C，请将乙醇置冰上预冷)，涡旋振荡充分混匀，室温放置 5 min，瞬时离心，使管壁上的溶液收集到管底。
 - 5 将得到的溶液转入已装入收集管的吸附柱 (Spin Columns AC) 中，12,000 rpm 离心 1 min，弃废液。
 - 6 向吸附柱 AC 中加入 **500 μ l Buffer WB1**，12,000 rpm 离心 30 s，倒掉废液。
 - 7 向吸附柱 AC 中加入 **600 μ l Buffer WB2** (使用前请检查是否已加入无水乙醇!)，12,000 rpm 离心 30 s，倒掉废液。
 - 8 重复步骤 7。
 - 9 将吸附柱 AC 放回空收集管中，12,000 rpm 离心 2 min，弃掉收集管和废液。
注意：这一步的目的是将吸附柱中残余的乙醇去除，乙醇的残留会降低洗脱效率，影响后续的酶促反应 (酶切、PCR 等)。为确保下游实验不受残留乙醇的影响，可以将吸附柱开盖放置几分钟，以彻底晾干残余乙醇。
 - 10 将吸附柱 AC 放入一个新的 1.5 ml 离心管中，向吸附膜的中间部位悬空滴加 **30-50 μ l Buffer EB**，室温放置 2-5 min，12,000 rpm 离心 1 min，收集 DNA 溶液。-20°C 保存 DNA。
注意：如果要提高 DNA 的终浓度，可以将步骤 10 所得的 DNA 溶液重新加至吸附膜上，室温放置 2 min，12,000 rpm 离心 1 min。
-