

公司网址：

服务热线：

Version 01 / 2024

Circulating DNA Kit

游离 DNA 提取试剂盒

目录号：AO3110

试剂盒组成

Component	DL2001 (50 T)	DL2002 (100 T)
Buffer VL	15 ml	25 ml
Buffer WB1	25 ml	50 ml
Buffer WB2 (concentrate)	13 ml	25 ml
Buffer WB2 (concentrate)	第一次使用前按说明加指定量无水乙醇	第一次使用前按说明加指定量无水乙醇
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

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 1x PBS 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 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，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 3-5 min，12,000 rpm 离心 1 min，收集 DNA 溶液。-20 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。