

版本号: DP140113

# Serum / Plasma Circulating DNA Kit

## 血清/血浆游离DNA提取试剂盒

(离心柱型)

目录号: DP339

### 产品内容

产品组成	DP339 (50 preps)
缓冲液GA (Buffer GA)	15 ml
缓冲液GB (Buffer GB)	15 ml
缓冲液GD (Buffer GD)	13 ml
漂洗液PW (Buffer PW)	15 ml
洗脱缓冲液TB (Buffer TB)	15 ml
Proteinase K	1 ml
Carrier RNA	310 µg
RNase-Free ddH <sub>2</sub> O	1 ml
吸附柱CR2 (Spin Columns CR2)	50个
收集管(2 ml) (Collection Tubes 2 ml)	50个

### 储存条件

该试剂盒置于室温(15-25℃)干燥条件下,可保存12个月,更长时间的保存可置于2-8℃。2-8℃保存条件下,若溶液产生沉淀,使用前应将试剂盒内的溶液在室温放置一段时间,必要时可在37℃水浴中预热10 min,以溶解沉淀。Carrier RNA配置成储液后置于-20℃。

---

## 产品简介

本试剂盒采用可以特异性结合核酸的离心吸附柱和独特的缓冲液系统，样品裂解后，DNA在高盐条件下与硅胶膜结合，在低盐、高pH值时DNA从硅胶膜上洗脱下来。

本试剂盒用于从小剂量的血清/血浆中提取游离DNA，所得游离DNA可直接用作PCR模板、杂交等分子生物学实验。

### 注意事项 请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项

1. 自备试剂：无水乙醇
2. 样品使用量的确定：

微量样品DNA提取试剂盒技术指标

吸附柱最大容量	700 $\mu$ l
最小洗脱体积	20 $\mu$ l
样本体积	最大量200 $\mu$ l

3. 若缓冲液GA或GB中有沉淀，可在37°C水浴中重新溶解。
4. 所有的样品使用前请平衡到室温(15-25°C)。
5. 第一次使用试剂盒时，请按照试剂瓶上的提示在缓冲液GD和漂洗液PW中添加无水乙醇。
6. 为了确保从微量样本中得到更多的DNA，试剂盒配备了Carrier RNA。由于Carrier RNA本身是小核酸，所以得到的基因组测定OD260值会比真实值偏大，建议将得到的基因组直接用PCR进行检测。

## Carrier RNA储存液的配制

在第一次使用Carrier RNA时，请将Carrier RNA（310  $\mu$ g）溶解在310  $\mu$ l RNase-Free ddH<sub>2</sub>O中，将溶液分装储存于-20°C，此时该溶液的浓度为1  $\mu$ g/ $\mu$ l；该储存液应避免反复冻融，冻融次数不能超过3次。

---

---

## 操作步骤

使用前请先在缓冲液GD和漂洗液PW中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶上的标签。

1. 取100  $\mu$ l -200  $\mu$ l血清/血浆到2ml的离心管中，如不足100  $\mu$ l，加缓冲液GA到100  $\mu$ l终体积。
2. 加入20  $\mu$ l Proteinase K溶液，涡旋混匀。
3. 加入200  $\mu$ l的缓冲液GB（可加入1  $\mu$ l Carrier RNA储存液，浓度为1  $\mu$ g/ $\mu$ l，Carrier RNA储存液的配制见第2页），轻轻颠倒混匀，56 $^{\circ}$ C孵育10 min，并不时摇动样品。简短离心以去除管盖内壁的液滴。

**注意：**加入缓冲液GB时可能会产生白色沉淀，一般56 $^{\circ}$ C放置时会消失，不会影响后续实验。如溶液未变清亮，说明细胞裂解不彻底，可能导致提取DNA量少和提取出的DNA不纯。

4. 加入200  $\mu$ l的乙醇（96-100%）。如果室温超过25 $^{\circ}$ C，请将乙醇置冰上预冷。轻轻颠倒混匀样品，室温放置5 min，简短离心以去除管盖内壁的液滴。
  5. 将上一步所得溶液添加到一个吸附柱CR2中（吸附柱放入收集管中），12,000 rpm (~13,400  $\times$ g)离心30 sec，弃废液，将吸附柱CR2放回收集管中。
  6. 向吸附柱CR2中加入500  $\mu$ l缓冲液GD（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm (~13,400  $\times$ g)离心30 sec，弃废液，将吸附柱CR2放回收集管中。
  7. 向吸附柱CR2中加入600  $\mu$ l 漂洗液PW（使用前请先检查是否已加入无水乙醇）12,000 rpm (~13,400  $\times$ g)离心30 sec，弃废液，将吸附柱CR2放回收集管中。
-

- 
8. 重复操作步骤7。
  9. 12,000 rpm (~13,400×g)离心2 min, 倒掉废液。将吸附柱CR2置于室温放置2-5 min, 以彻底晾干吸附材料中残余的漂洗液。

**注意：**这一步的目的是将吸附柱中残余的漂洗液去除，漂洗液中乙醇的残留会影响后续的酶反应（酶切、PCR等）实验。

10. 将吸附柱CR2转入一个干净的离心管中，向吸附膜中间位置悬空滴加20-50 μl 洗脱缓冲液TB，室温放置2-5 min，12,000 rpm(~13,400×g)离心2 min，将溶液收集到离心管中。

**注意：**洗脱缓冲液体积不应少于20 μl，体积过小影响回收效率。为增加基因组DNA的得率，可将离心得到的溶液再次加入吸附柱CR2中，室温放置2 min，12,000 rpm (~13,400×g)离心2 min。洗脱液的pH值对于洗脱效率有很大影响。若用水做洗脱液应保证其pH值在7.0-8.5范围内，pH值低于7.0会降低洗脱效率；且DNA产物应保存在-20℃，以防DNA降解。

---