

血液游离DNA提取试剂盒

Catalog # ZPM105

产品简介:

血液游离DNA 又称游离循环核酸 (Circulating Cell Free nucleic acid), 是指循环血液游离于细胞外的部分, 降解的机体内源性DNA。这类DNA 片段大小通常小于1000bp, 主要存在于血清及血浆中。例如癌症患者血液中, 带有病变基因突变位点的游离DNA 片段以及母血中的少量来源于胎儿的游离循环DNA 片段。这类DNA 片段在疾病的早期诊断、预后、监测等方面具有重要潜在价值。血清或是血浆中的游离循环DNA 的浓度因个体而异且浓度很低常在1-100ng/ml 范围内。

血液游离循环DNA 提取试剂盒专为从血清或是血浆中提取游离循环DNA 而设计, 该试剂盒根据样品量分为200 μ l 样品的小提试剂盒以及适用样品量为1ml, 2ml, 2.5ml, 5ml 大提试剂盒。所用样品最好为新鲜血浆或是血清样品, -80 的冻存样品也适用但不能反复冻融。试剂盒可有效结合血浆及血清中浓度低至50 pg/ml 的游离DNA 片段, 由于该试剂盒最后洗脱体积可低至20 μ l, 这一特性使试剂盒具有浓缩提取低浓度游离DNA 片段的作用。提取得到DNA片段既可直接用PCR 扩增, qPCR 测定, 二代测序 (NGS) 等下游分子操作, 也可置于-20 储存备用。

产品优势:

- 1.1 可在不用离心机真空抽滤的条件下高效稳定的提取游离DNA 片段。
- 1.2 可针对性的结合血浆及血清中的游离小片段DNA。
- 1.3 灵敏性高, 可捕获血清或是血浆中低至50 pg/ml 的游离循环DNA 片段。
- 1.4 洗脱体积可低至20 μ l, 该特性保证了所提取样品的高浓度。
- 1.5 适用于全自动机械化多样品平台操作, 免去了离心及真空等耗人工的操作步骤。
- 1.6 磁珠较传统离心柱, 可保证从样品中提取出来的DNA 损失降至最低。

试剂盒组成及保存:

Components	50T(ZPM105-1)	100T(ZPM105-2)	200T(ZPM105-3)
Proteinase K	500uL	1 ml	2 ml
Mag Beads	500uL	1 ml	2 ml
Buffer CA	2.5ml	5 ml	10 ml
Buffer CL	20mL	40 mL	80 mL
Buffer CW1	15 mL(加15ml乙醇后使用)	30 mL(加30ml乙醇后使用)	60 mL(加60ml乙醇后使用)
Buffer CW2	15 mL(加55ml乙醇后使用)	30 mL(加90ml乙醇后使用)	30 mL \times 2(加90ml乙醇后使用)
Elution Buffer	15 mL	15 mL	15 mL

注: 首次使用请按照试剂瓶标签上的说明在Buffer CW1 和Buffer CW2 中加入无水乙醇。

试剂盒内的磁珠和Proteinase K请置于4 保存, 其它组分室温保存即可, 如果Buffer CL 及Buffer CW1 出现结晶析出现象, 需将结晶溶解后使用。在适合的储存条件下该试剂盒未开封使用有效期为1年, 开封使用后请于3 个月内使用以保证最佳实验效果。

磁珠特性： 适用样品类型: 血清及血浆 表面功能团: 羧基
磁珠浓度: 50 mg/ml 磁珠保存液成分: ddH₂O

操作步骤：

1 样品处理（如样品蛋白含量较高请使用方案 ，蛋白含量高时，步骤4 之后的磁珠不易分散洗涤。）

取200 μl（不足时以H₂O补足）样品加入50 μl Buffer CA颠倒混匀后，加入10ul Proteinase K，57 °C温浴20min（可根据自身样品自行调整）。加入350 Buffer CL颠倒混匀，再加入300 μl 无水乙醇，可漩涡震荡样品管以充分混匀。

取200ul 样品（不足时以H₂O补足）加入400 Buffer CL颠倒混匀，再加入300 μl 无水乙醇，可漩涡震荡样品管以充分混匀。

- 2 充分混合震荡磁珠，使管内磁珠完全均匀悬浮起来，取10 μl 磁珠加入样品管中。
- 3 样品管室温放置3分钟。注：放置期间如出现磁珠沉降现象应及时颠倒混匀，以保证磁珠对DNA 的结合效率。1000-2000转离心 1-2s 收集管盖上的液体。
- 4 将样品管置于磁力架上1 分钟左右或待磁珠被磁力架装置完全吸附，保持样品管在磁力架上静止，用移液枪吸取上清并弃掉，操作过程中避免触碰到磁珠团。
- 5 向管中加入500 μl 的Buffer CW1 ，上下颠倒混匀或弹击管壁，务必使磁珠分散开，无大的团块（0.5mm见方）。1000-2000转离心 1min 收集管盖上的液体。
- 6 将样品管置于磁力架上1 分钟左右或待磁珠被磁力架装置完全吸附，保持样品管在磁力架上静止，用移液枪吸取上清并弃掉，操作过程中避免触碰到磁珠团。
- 7 向管内加入500 μl Buffer CW2 ，上下颠倒混匀或弹击管壁，务必使磁珠分散开，无大的团块（0.5mm见方）。1000-2000转离心 1min 收集管盖上的液体。
- 8 将样品管置于磁力架上1 分钟左右或待磁珠被磁力架完全吸附，保持样品管在磁力架上静止，用移液枪吸取上清并弃掉，操作过程中避免触碰到磁珠团。
- 9 重复步骤7-8 一次，将管内的液体全部吸除干净，并将样品管从磁力架上取出；1000-2000转离心1min收集管中的液体后，将样品管置于磁力架上1min或待磁珠被磁力架完全吸附，再次彻底吸除干净残留 的乙醇。
- 10 将样品管于室温放置5分钟，使残留乙醇充分挥发。注：避免真空抽干，磁珠过于干燥将会降低DNA 洗脱效率。
- 11 向管内加入20-100 μl Elution Buffer 并用移液枪轻轻吹打5-10 次或弹击管壁使磁珠充分重悬，操作过程中应避免产生气泡。
- 12 室温放置1-5 分钟以充分洗脱。注：为了达到最大产量请在放置期间定时混匀磁珠。4000转离心5- 10s,收集管壁及管盖上的液体。
- 14 将洗脱样品管放回磁力架上1min或待所有磁珠都被磁力架装置完全吸附。
- 15 小心的将洗脱上清转移到新的灭过菌的管子中，在转移过程不要碰到磁珠，如出现磁珠悬起现象请重复步骤14-15。