

M5 Plus 游离 DNA 提取试剂盒使用说明书

产品名称	单位	货号
M5 Plus 游离 DNA 提取试剂盒	10T	MF063-plus-01
M5 Plus 游离 DNA 提取试剂盒	50T	MF063-plus-05

【储存条件】

所有组分保质期为一年

蛋白酶 K：配置后保存在 4°C 或者 -20°C。取 250 μ l PK buffer 加入到装有 proteinase K 中，吸打混匀。

蛋白酶 K 的浓度为 20mg/ml。

Lysis Buffer、Wash Buffer：密闭保存，防止醇类挥发。

【试剂盒组分】

	MF063-plus-01	MF063-plus-05
Kit size	10preps	50preps
Buffer Lysis	4ml	17ml
Wash Buffer	7ml	30ml
Beads	250 μ l	1.1ml
Eluent	2ml	4ml
Proteinase K	250 μ l	1.2ml
Protocol Manual	1	1

【产品简介】

M5 Plus 游离 DNA 提取试剂盒可以从血浆中分离得到高纯度、高得率的游离 DNA，并且适用于高通量核酸提取仪。避免了柱式核酸提取试剂盒的人工操作的二次污染、人工误差、操作繁琐等问题，大大减少了实验时间，并且相对于柱式试剂盒，本试剂盒可调控的实验提取体系，可以处理不同体积的样品，使得试剂成本大大降低。血浆在 Lysis buffer 中裂解并且游离 DNA 与磁珠特异性的结合，使得试剂盒可以应用在核酸提取仪和 workstation，实现了高通量核酸提取。

【游离 DNA 的用途】

游离 DNA 提取后被广泛应用在产前无创诊断和肿瘤精准诊断上面。将得到的游离 DNA 通过 qPCR 和数字 PCR 的方法分析，可以很方面的知道某基因的特定片段的拷贝数；或者将游离 DNA 经过二代测序分析，然后经过数据分析，被应用在无创核酸唐氏筛查上面。

【实验流程】

Plus 游离 DNA 提取试剂盒通过磁珠和配套的试剂体系纯化游离 DNA。首先用 lysis buffer 和蛋白酶 K 的共同作用将血浆裂解，然后游离 DNA 在高盐高醇的条件下与磁珠表面活性基团进行特异性结合。用 wash buffer 洗脱去除粘附在磁珠上面的蛋白、糖类物质，然后用 70% 的乙醇去除试管壁和磁珠上面的离子。经过干燥去除乙醇后，加入 Elution Buffer 将 DNA 磁珠上面洗脱下来。洗脱下来的 DNA 可以用于下游实验或者储存。

【安全信息】

操作本试剂盒时，请佩戴好一次性手套、工作服和护目镜。要得到更多的安全信息，请参考相关的材料安全数据（MSDSs）。

【实验前准备】

1.5 ml 离心管或者 2ml 的 96 孔板

无水乙醇和去离子水

配套 1.5ml 离心管或者 96 孔板的磁力架

确保 Lysis Buffer 和 Wash Buffer 密闭保存

磁珠在加入样品前需要充分涡旋混匀

【实验步骤】

以下操作步骤是从 200 μ l 血浆中提取游离 DNA 为例而设计的，从其它体积的样品中提取游离核酸可按比例加 Buffer KH、Beads、Protease K，以后步骤中的 Buffer 用量不变。

1. 取 20 μ l 蛋白酶 K 溶液于一新的 1.5 ml 离心管中。加入 200 μ l 血浆样品。

2. 加入 300 μ l Buffer KH, 漩涡振荡混合均匀 30 秒, 室温放置 10 min.
注意: 室温静置 10 分钟过程中混匀 2 次, 每次漩涡震荡 15 秒, 可提升裂解效果。
3. 加入 20 μ l 磁珠溶液于 1.5ml 离心管中, 盖紧离心管, 漩涡震荡 15 秒。室温静置 5 分钟。
注意: 室温静置 5 分钟过程中混匀 1 次, 每次漩涡震荡 15 秒, 使管内磁珠分布均匀。
4. 将反应管置于磁力架上静置 30 秒, 颠倒试管, 让管盖上面的磁珠也全部吸附至管壁, 上清清澈后, 吸弃液体。
注意: 勿将磁珠吸出。
5. 加入 500 μ l Buffer KH2, 漩涡震荡 10 秒, 在室温下放置 1 分钟。
6. 将反应管置于磁力架上静置 30 秒, 直至磁珠全部吸附至管壁, 上清清澈后, 吸弃液体。
注意: 勿将磁珠吸出。
7. 加入 500 μ l 70%乙醇, 漩涡震荡混匀, 在室温下放置 30 秒。
8. 将反应管置于磁力架上静置 30 秒, 直至磁珠全部吸附至管壁, 上清清澈后, 吸弃液体。
注意: 勿将磁珠吸出。弃液体后, 勿将反应管从磁力架上取出。
9. 加入 500 μ l 70%乙醇, 漩涡震荡混匀, 在室温下放置 30 秒。
10. 将反应管置于磁力架上静置 30 秒, 直至磁珠全部吸附至管壁, 上清清澈后, 吸弃液体。
注意: 勿将磁珠吸出。
11. 让磁珠在室温下干燥 5 分钟, 如果干燥后仍有乙醇残留, 需要再次静置 5 分钟或是尽量吸弃液体。
注意: 弃液体后, 勿将反应管从磁力架上取出。勿使磁珠过分干燥, 否则将影响 DNA 得率;
若磁珠过分干燥, 加入洗脱液后必须在 56 $^{\circ}$ C 中孵育 2 分钟
12. 移去磁力架, 加入 30~50 μ l 洗脱液或去离子水, 用移液器吸头轻柔吹打或悬浮震荡管壁磁珠, 直至分布均匀, 静置 2 min。
注意: Eluent 或去离子水在 56 $^{\circ}$ C 预热后, 可提高 DNA 的洗脱效率
13. 将反应管置回磁力架上, 静置直至磁珠全部吸附至管壁, 吸取上清转移至一新的离心管中 (不提供), 即得高纯度的 DNA。

常见问题:

实验问题	可能原因	建议
DNA得率低	血浆中凝血块	去除凝血块, 然后进行试验。
	磁性没有完全均匀悬浮	用移液器吸打或者涡旋磁珠, 保证磁珠加入试管时是充分悬浮的。
	磁珠在操作过程中丢失.	需要足够的时间的吸附磁珠和去除上清的时候不要碰触磁珠.
	Lysis Buffer和Wash buffer中的醇类挥发出来了	挥发后有晶体析出, 请联系诺世.
	样本游离DNA过少或者储存过程中发生了降解	需要重新采样.
磁吸附后, 磁珠仍然悬浮在溶液	吸附时间太短	增加吸附时间或者更换磁力架。
下游实验中发现杂质	忘记加蛋白酶K或者蛋白酶K失效。	需要重新配置蛋白酶K
洗脱液中有磁珠残留	磁珠吸附时间太短或者转移时碰触到磁珠	增加磁吸附时间, 磁珠不会影响下游实验, 可以重新磁分离去除残留磁珠。

【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时, 本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。