



Magbead Free-Circulating DNA Maxi Kit

磁珠法大体积游离DNA提取试剂盒

目录号： CW2560S (2 mL×48 preps)

保存条件： Magbeads ZN 2-8℃，其余组分室温 (15-30℃)

产品内容

Component	CW2560S 2 mL×48 preps
Buffer MPL	120 mL
20% SDS	6 mL
Buffer GW1 (concentrate)	80 mL
Buffer GCW2 (concentrate)	40 mL
RNase-Free Water	30 mL
Proteinase K	2×1.25 mL
Magbeads ZN	2×1 mL

产品简介

该试剂盒适用于从血浆、血清、羊水等无细胞体液中纯化回收游离DNA (Free-circulating/Cell-free DNA)。高盐时，游离DNA结合于硅基包被的磁珠表面。漂洗后，游离DNA洗脱于RNase-Free Water中。游离DNA的得率与样品类型、储存条件、时间以及个体间差异有很大关系。纯化得到的游离DNA质量稳定、可靠，可用于定量PCR、产前诊断等下游实验。

自备仪器、试剂

1. 康为CWE240全自动核酸提取仪
2. 无水乙醇、异丙醇（北京化工厂）
3. 24 DW Plate and Tips Pack for CWE240（货号：CW3066）

实验前准备及重要注意事项

1. 第一次使用前应按试剂瓶标签说明先在Buffer GW1中加入无水乙醇。
2. 第一次使用前应按试剂瓶标签说明先在Buffer GCW2中加入无水乙醇。
3. 若手动操作，在实验开始前将恒温混匀仪预热至60℃。
4. Magbeads ZN严禁冰冻和高速离心，否则可能会对Magbeads ZN造成不可逆的损害。Magbeads ZN每次使用时请充分振荡混合均匀。
5. 用前请先检查Buffer MPL 和 20% SDS是否出现结晶或沉淀，如有结晶或沉淀现象，可在37℃水浴几分钟，即可恢复澄清。

操作步骤（手动，以2mL血浆为例）

1. 按下表向离心管中依次加入30 μ L Proteinase K、2 mL血浆、100 μ L 20% SDS，放于60℃、1200 rpm恒温混匀仪上震荡20分钟，孵育结束后将离心管冰浴5-10分钟。

注：如无恒温混合仪，将离心管涡旋震荡10秒钟后放于60℃水浴锅中孵育20分钟，期间每隔7分钟涡旋震荡10秒钟。

为避免蛋白酶K失活，请按下表试剂顺序依次加入，请勿将SDS直接加到蛋白酶K溶液中。

Reagent	血浆体积			
	1 mL	2 mL	4 mL	10 mL
Proteinase K	15 μ L	30 μ L	60 μ L	150 μ L
血浆样本	1 mL	2 mL	4 mL	10 mL
20% SDS	50 μ L	100 μ L	200 μ L	500 μ L
总体积	1.065 mL	2.13 mL	4.26 mL	10.65 mL

2. 孵育过程中，按下表准备裂解液/磁珠混合液，并混合均匀。

Reagent	血浆体积			
	1 mL	2 mL	4 mL	10 mL
Buffer MPL	1 mL	2 mL	4 mL	10 mL
异丙醇	0.25 mL	0.5 mL	1 mL	2.5 mL
Magbeads ZN	15 μ L	30 μ L	60 μ L	150 μ L
总体积	1.265 mL	2.53 mL	5.06 mL	12.65 mL

- 将步骤2中准备的裂解液/磁珠混合液加到步骤1样本管中。涡旋震荡1分钟，然后手工上下颠倒或使用混匀仪混匀5-10分钟，使磁珠一直处于悬浮状态。
- 将离心管放于磁力架上静置，待磁珠吸附到磁力架上，管内溶液变澄清后，翻转离心管冲洗瓶盖上残留磁珠，再放置1分钟左右，之后弃去溶液。
- 向离心管中加入1 mL Buffer GW1（使用前请检查是否已加入无水乙醇），震荡混匀后将混悬液转移到新的1.5 mL离心管中。
- 将离心管固定于磁力架上静置1分钟，之后弃去溶液。
- 向离心管中加入1 mL Buffer GW1（使用前请检查是否已加入无水乙醇），涡旋震荡5秒钟后放于25℃、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡结合2分钟。
- 将离心管固定于磁力架上静置1分钟，之后弃去溶液。
- 向离心管中加入1 mL Buffer GCW2（使用前请检查是否已加入无水乙醇），涡旋震荡5秒钟后放于25℃、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡结合2分钟。
- 将离心管固定于磁力架上静置1分钟，之后弃去溶液。
- 重复步骤9-10。
- 离心管短暂离心后，将其重新固定于磁力架上用移液器去除管底溶液，开盖室温放置5-10分钟使乙醇充分挥发。

- 向离心管中加入50-100 μL RNase-Free Water后涡旋震荡使磁珠充分悬浮于洗脱液中，之后将离心管固定于25 $^{\circ}\text{C}$ 、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡洗脱10分钟。
- 将离心管固定于磁力架上静置2分钟，待Magbeads完全吸附于离心管侧壁后用移液器将洗脱液转移至新的离心管中-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

操作步骤（与CWE240匹配，以4mL 血浆为例）

- 按下表向24 DW深孔板中加入试剂：

血浆体积	2 mL	4 mL
位置	试剂及用量	试剂及用量
Plate 1	Proteinase K: 30 μL 血浆: 2 mL 20% SDS: 100 μL	Proteinase K: 60 μL 血浆: 4 mL 20% SDS: 200 μL
Plate 2	Buffer GW1: 1 mL	Buffer GW1: 1 mL
Plate 3	Buffer GW1: 1 mL	Buffer GW1: 1 mL
Plate 4	Buffer GCW2: 1 mL	Buffer GCW2: 1 mL
Plate 5	Buffer GCW2: 1 mL	Buffer GCW2: 1 mL
Plate 6	RNase-Free Water: 100 μL	RNase-Free Water: 100 μL

- 将“24 DW Plate and Tips Pack for CWE240”放入CWE240核酸提取仪的相应位置中，运行“CW2560 ctDNA程序”。
- 约25分钟后仪器暂停，将“Plate 1”拿出仪器后立即放到冰上5-10分钟，然后按下表加入试剂。

血浆体积	2 mL	4 mL
位置	试剂及用量	试剂及用量
Plate 1	Buffer MPL: 2 mL 异丙醇: 0.5 mL Magbeads ZN: 30 μL	Buffer MPL: 4 mL 异丙醇: 1 mL Magbeads ZN: 60 μL

- 将24 DW深孔板放回仪器中，继续运行程序。约45分钟后程序运行结束。把“Plate 6”中的DNA洗脱产物转移至离心管中-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。