

cfDNA Extraction Mini Kit

游离 DNA 小量提取试剂盒

本产品适合于从 0.6ml 血清血浆样品中提取游离 DNA。试剂盒基于硅胶柱纯化技术，提取过程中无需使用有毒的酚氯仿抽提，也无需进行耗时的醇类沉淀，整个提取过程只需 40 分钟。得到的 DNA 可直接用于定量 PCR, 芯片分析, SNP 检测等实验。

产品组份

产品编号	DNC371-01	DNC371-02	DNC371-03
纯化次数	10 次	50 次	250 次
DNA Extraction Mini Columns I	10	50	250
2ml Collection Tubes	10	50	250
Buffer CL	3 ml	15 ml	180 ml
Buffer W1A	4.4 ml	13 ml	180 ml
Buffer W2A	5 ml	15 ml	66 ml
Proteinase K	550 μ l	3 ml	15 ml
Binding Enhancer	1	1	1
Buffer EB	1.5 ml	10 ml	50 ml

保存条件

本产品除 Binding Enhancer 外，可在室温(15~25℃)保存 12 个月，长期保存时需置于 2-8℃。低温下，Buffer CL 可能会有沉淀形成，需 55℃ 水浴让沉淀完全溶解。Binding Enhancer 室温运输，收到产品后请保存于 -20~8℃。

准备事项

- 55°C和 70°C水浴锅
- Buffer W1A 使用前，须按瓶子标签所示，加入无水乙醇进行稀释。
- Buffer W2A 使用前，须按瓶子标签所示，加入无水乙醇进行稀释。

实验步骤

1. 转移 600 μ l 血清血浆样品及 50 μ l Proteinase K 至 2ml 离心管中。
2. 加入 600 μ l Buffer CL 及 2 μ l Binding Enhancer 至离心管中，颠倒混匀充分，高速涡旋 15 秒。60°C水浴 20 分钟。期间颠倒混匀数次。
该步骤必须涡旋混匀，若未涡旋混匀即加热会导致提取的 DNA 产量及纯度大大下降。
3. 加入 350 μ l 异丙醇至消化液中，涡旋混匀 15 秒，室温放置 5 分钟。
4. 把 DNA Extraction Mini Columns I 装在 2ml 收集管中。转移混合液至柱子中。13,000 \times g 离心 1 分钟。
若柱子出现堵塞，14,000 \times g 离心 3~5 分钟。混合液超过 750 μ l，分次过柱。
5. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。重复上一步直至所有混合液过柱。
6. 加入 500 μ l Buffer W1A 至柱子中。13,000 \times g 离心 10 秒。
7. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。加入 600 μ l Buffer W2A 至柱子中。13,000 \times g 离心 10 秒。
8. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。加入 600 μ l Buffer W2A 至柱子中。13,000 \times g 离心 10 秒。
9. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。13,000 \times g 离心 3 分钟。
该步骤去除 DNA 柱中残留的乙醇，乙醇残留会影响后续的酶促反应。当洗脱体积低于 30 μ l 时，该步骤结束后应打开 DNA 柱盖子于室温空气干燥 10 分钟后再进行洗脱，避免乙醇残留对酶促反应的影响。
10. 将柱子装在新的 1.5ml 离心管中。加入 30~50 μ l 预热至 65°C 的 Buffer EB 至柱子的膜中央。放置 3 分钟。13,000 \times g 离心 1 分钟。
柱子最小的洗脱体积是 20 μ l，若对产量要求较高，推荐进行第二次洗脱，将洗脱液重新加至柱子膜中央，室温静置 3 分钟，13,000 \times g 离心 1 分钟。

11. 丢弃 DNA 结合柱，把 DNA 保存 2-8℃，长期保存需放置于-20℃。

解决方案

1. 柱子堵塞

- **样品消化不充分：**样品与裂解液未充分混匀或蛋白酶 K 和裂解液预混。
- **消化液存在不溶解的物质：**若样品消化后仍存在明显的颗粒，于 12,000 x g 离心 3 分钟去除未消化的物质。

2. DNA 产量低。

- Buffer W1A/W2A 没有加入乙醇稀释。