

## Circulating DNA Kit

## 游离 DNA 提取试剂盒

目录号: DNE06

## 试剂盒组成

Component	DNE06-01 (50 preps)	DNE06-02 (100 preps)
Buffer VL	15 ml	30 ml
Buffer WB1	25 ml	50 ml
Buffer WB2	13 ml	25 ml
	第一次使用前按说明加指定量无水乙醇	
Buffer EB	10 ml	20 ml
Proteinase K (20 mg/ml)	1 ml	1 ml x 2
Spin Columns AC with Collection Tubes	50	100

## 保存方法

室温 (15-30°C) 保存。

## 产品介绍

本试剂盒适合从新鲜或冷冻的血清、血浆、淋巴液等无细胞体液中分离纯化游离 DNA。采用优化的缓冲体系使裂解液中的 DNA 高效特异的结合到硅基质离心吸附柱上,而其他杂质可流过膜, PCR 和其他酶促反应的抑制剂可通过两步洗涤被有效去除, 最后使用低盐缓冲液或水洗脱, 即可获得高纯度 DNA。得到的游离 DNA 用于 PCR、荧光定量 PCR 和二代测序等分子生物学实验。

## 注意事项

1. 开始试验前请将需要的水浴或金属浴预热至 56°C 备用。
2. 第一次使用 Buffer WB2 前按照试剂瓶标签的说明加入指定量无水乙醇, 并及时打勾标记, 以免重复加入。
3. Buffer EB 中不含有螯合剂 EDTA 成分, 不影响下游酶切、连接等反应。也可以使用水洗脱, 但应该确保 pH 在 7.5-8.5 之间, pH 过低影响洗脱效率。

**操作步骤**（以下所有离心步骤均在室温下进行）

1. 取 200  $\mu$ l 血清、血浆或无细胞体液到一个离心管中，如不足 200  $\mu$ l，加 1xPBS 补足至 200  $\mu$ l。
  2. 加入 20  $\mu$ l Proteinase K 溶液，涡旋混匀。
  3. 加入 200  $\mu$ l Buffer VL，涡旋振荡 15 sec，充分混匀，56°C 放置 10 min，并不时摇动样品。
  4. 加入 200  $\mu$ l 无水乙醇（如果室温高于 25°C，请将乙醇置冰上预冷），涡旋振荡充分混匀，室温放置 5 min，瞬时离心，使管壁上的溶液收集到管底。
  5. 将得到的溶液转入已装入收集管的吸附柱 (Spin Columns AC) 中，12,000 rpm 离心 1 min，弃废液。
  6. 向吸附柱 AC 中加入 500  $\mu$ l Buffer WB1，12,000 rpm 离心 30 s，倒掉废液。
  7. 向吸附柱 AC 中加入 600  $\mu$ l Buffer WB2（使用前请检查是否已加入无水乙醇!），12,000 rpm 离心 30 s，倒掉废液。
  8. 重复步骤 7。
  9. 将吸附柱 AC 放回空收集管中，12,000 rpm 离心 2 min，弃掉收集管和废液。  
**注意：**这一步的目的是将吸附柱中残余的乙醇去除，乙醇的残留会降低洗脱效率，影响后续的酶促反应（酶切、PCR 等）。为确保下游实验不受残留乙醇的影响，可以将吸附柱开盖放置几分钟，以彻底晾干残余乙醇。
  10. 将吸附柱 AC 放入一个新的 1.5 ml 离心管中，向吸附膜的中间部位悬空滴加 30-50  $\mu$ l Buffer EB，室温放置 2-5 min，12,000 rpm 离心 1 min，收集 DNA 溶液。-20°C 保存 DNA。  
**注意：**如果要提高 DNA 的终浓度，可以将步骤 10 所得的 DNA 溶液重新加至吸附膜上，室温放置 2 min，12,000 rpm 离心 1 min。
-