

MagPure Circulating DNA Rich Kit

简介

MagPure Circulating DNA Rich Kit 适合于从 0.5~2ml 的血清、血浆中富集提取 100bp~500bp 游离 DNA，并有效去除大于 500bp 的背景 DNA。试剂盒基于超顺磁性的磁性粒子纯化技术，可最大程度减少交叉污染的风险，提高检测的灵敏度和准确度。仪器运行时间只需 50 分钟。得到的 DNA 可直接用于定量 PCR 和二代测序等实验。

组成

产品编号	12927-20	12927-50
纯化次数(2000 μ l)	20 Preps	50 Preps
MagPure Particles G	4 ml	10 ml
MagBind Particles(分选磁珠)	2.2 ml	5.5 ml
Select Solution	15 ml	50 ml
Proteinase K	50 mg	120 mg
Protease Dissolve Buffer	3 ml	15 ml
Buffer SDS	3 ml	15 ml
Buffer MLK	60 ml	150 ml
Buffer BST1	40 ml	100 ml
Buffer MKW1	40 ml	100 ml
Buffer MW2*	20 ml	50 ml
Buffer AE	10 ml	10 ml
说明书	1	1

保存条件

MagPure Circulating DNA Rich Kit 除 Proteinase K、MagBind Particles 和 MagPure Particles G 外，其他组份均在室温下进行。Proteinase K、MagBind Particles 和 MagPure Particles G 保存于 2~8°C。溶解后的 Proteinase K 须保存于 -20°C。

准备工作

- 溶解 Proteinase K: 按标签所示，加适量的 Protease Dissolve Buffer 至 Proteinase K 干粉中，颠倒混匀 10~15 次让 Proteinase K 充分溶解，保存于 -20°C。
- Buffer MW2 使用前加入 80ml 无水乙醇。

提取流程 A: 2.0ml 样品抽提

该方案采用手工操作流程，适合于从 2.0ml 血清和血浆样品中提取游离 DNA。

- 在 10~15ml 离心管中，加入 2.0ml 血清或血浆。
- 加入 100 μ l Proteinase K 和 100 μ l Buffer SDS，涡旋混匀，55°C 水浴 20 分钟。
- 加入 2.4ml Buffer MLK、100 μ l MagBind Particles 和 Select Solution (400 μ l、500 μ l、600 μ l 或 700 μ l) 至样品中，颠倒混匀 10 分钟。3,000~5,000 x g 离心 10 分钟。转移上清液至新的 15ml 离心管中。(丢弃这一步磁珠，磁珠吸附了大片段)
(400 μ l: 去除 1KB 以上的片段, 500 μ l 去除含 600bp 以上的片段, 600 μ l 去除含 500bp 以上的片段, 700 μ l 去除含 500bp 以上的片段。这个范围为外源添加 DNA Marker 的数据，用户可根据实验结果进行调整。)
- 加入 1.6ml Buffer BST1 和 180 μ l MagPure Particles G 至上清液中，颠倒混匀 10 分钟。3,000~5,000 x g 离心 5 分钟，小心吸弃上清液。(保留这一步磁珠，吸附 100~500bp 片段)
- 加入 1.5 ml Buffer MKW1，涡旋混匀 10 秒打散磁珠，转移所有的溶液至 2.0ml 离心管中。转移至磁力架上，静置 2 分钟吸附磁珠。小心吸弃所有溶液。
- 加入 1.5 ml Buffer MW2，涡旋混匀 10 秒。转移至磁力架上，静置 2 分钟吸附磁珠。小心吸弃所有溶液。
- 重复第 6 步 1~2 次。
- 短暂离心，收集管壁上的液滴。转移至磁力架上，小心吸弃所有溶液。
- 50°C 烘箱干燥 10 分钟。
- 加 40~60 μ l Buffer AE、Low TE 或灭菌水等缓冲液，涡旋打散磁珠，振荡混匀 5 分钟。
- 转移至磁力架上，静置 3 分钟。转移 DNA 溶液至新的 1.5ml 离心管中。

提取流程 B: 1.0ml 样品抽提

该方案采用手工操作流程, 适合于从 1.0ml 血清和血浆样品中提取游离 DNA。

1. 在 5~15ml 离心管中, 加入 1.0ml 血清或血浆。
2. 加入 50 μ l Proteinase K 和 50 μ l Buffer SDS, 涡旋混匀, 55 $^{\circ}$ C 水浴 30 分钟。
3. 加入 1.2ml Buffer MLK、50 μ l MagBind Particles 和 Select Solution (200 μ l、250 μ l、300 μ l 或 350 μ l) 至样品中, 颠倒混匀 10 分钟。3,000~5,000 \times g 离心 10 分钟。小心转移上清液至新的 5~15ml 离心管中。(丢弃这一步磁珠, 磁珠吸附了大片段)

(200 μ l: 去除 1KB 以上的片段, 250 μ l 去除含 600bp 以上的片段, 300 μ l 去除含 500bp 以上的片段, 350 μ l 去除含 400bp 以上的片段。这个范围为外源添加 DNA Marker 的数据, 用户可根据实验结果进行调整。)

4. **加入 0.8ml Buffer BST1 和 90 μ l MagPure Particles G 至上清液中, 颠倒混匀 10~15 分钟。**3,000~5,000 \times g 离心 5 分钟, 小心吸弃上清液。(保留这一步磁珠, 吸附 100~500bp 片段)
5. **加入 1.5 ml Buffer MKW1, 涡旋混匀 20 秒打散磁珠,** 转移所有的溶液至 2.0ml 离心管中。
6. 转移至磁力架上, 静置 2 分钟吸附磁珠。小心吸弃所有溶液。
7. **加入 1.5 ml Buffer MW2, 涡旋混匀 15 秒。**
8. 转移至磁力架上, 静置 2 分钟吸附磁珠。小心吸弃所有溶液。
9. 重复第 7-8 步一次。
10. 短暂离心, 收集管壁上的液滴。转移至磁力架上, 小心吸弃所有溶液。
11. 50 $^{\circ}$ C 烘干 10 分钟。
12. **加 40 μ l 预热至 55 $^{\circ}$ C 的 Buffer AE、Low TE 或灭菌水等缓冲液, 涡旋打散磁珠, 振荡混匀 5 分钟。**
13. 转移至磁力架上, 静置 3 分钟。转移 DNA 溶液至新的 1.5ml 离心管中。

提取流程 C: 0.5ml 样品抽提

该方案采用手工操作流程, 适合于从 0.5ml 血清和血浆样品中提取游离 DNA。

1. 在 2.0ml 离心管中, 加入 0.5ml 血清或血浆。
2. 加入 25 μ l Proteinase K 和 25 μ l Buffer SDS, 涡旋混匀, 55 $^{\circ}$ C 水浴 30 分钟。
3. 加入 0.55ml Buffer MLK、25 μ l MagBind Particles 和 Select Solution (100 μ l、125 μ l、150 μ l 或 175 μ l) 至样品中, 颠倒混匀 10 分钟。转移至磁力架上, 静置 5~10 分钟吸附磁珠。转移上清液至新的 2ml 离心管中。(丢弃这一步磁珠, 磁珠吸附了大片段)
(87.5 μ l: 去除 1KB 以上的片段, 12.5 μ l 去除含 600bp 以上的片段, 137.5 μ l 去除含 500bp 以上的片段。这个范围为外源添加 DNA Marker 的数据, 用户可根据实验结果进行调整。)
4. **加入 0.4ml Buffer BST1 和 45 μ l MagPure Particles G 至上清液中, 颠倒混匀 10~15 分钟。**转移至磁力架上, 静置 5 分钟吸附磁珠。小心吸弃所有溶液。(保留这一步磁珠, 吸附 100~500bp 片段)
5. **加入 0.7ml Buffer MKW1, 涡旋混匀 15 秒。**
6. 转移至磁力架上, 静置 2 分钟吸附磁珠。小心吸弃所有溶液。
7. **加入 0.7ml Buffer MW2, 涡旋混匀 15 秒。**
8. 转移至磁力架上, 静置 2 分钟吸附磁珠。小心吸弃所有溶液。
9. 重复第 7-8 步一次。
10. 短暂离心, 收集管壁上的液滴。转移至磁力架上, 小心吸弃所有溶液。
11. 室温干燥 10~15 分钟。
12. **加 30 μ l 预热至 55 $^{\circ}$ C 的 Buffer AE、Low TE 或灭菌水等缓冲液, 涡旋打散磁珠, 振荡混匀 5 分钟。**
13. 转移至磁力架上, 静置 3 分钟。转移 DNA 溶液至新的 1.5ml 离心管中。