

常见问题

1. DNA 产量低

- 样品 DNA 含量低: 样品中循环 DNA 含量很低, 提高样品的体积。
- 没有采用 EDTA 作为抗凝剂: 血液采集时, 应使用 EDTA 作为抗凝剂, 以防止循环核酸发生降解。
- 样品冻融超过一次: 循环 DNA 很容易发生降解。样品解冻后不能再用。

2. 柱子堵塞

- Proteinase K 活性下降: 重新制备 Proteinase K。Proteinase K 与 Buffer ACL 不能预先混合。
- 洗脱效率不够: 洗脱时 Buffer AE 预热至 60°C, 并加到膜中央, 室温放置 3 分钟。Buffer AE 的洗脱体积不够。
- 柱子没有空甩: 柱子必须空甩 3 分钟以去除膜上残留的乙醇。
- Buffer ACW1 和 Buffer ACW2 中乙醇没有加入或加入量不够: 按瓶子标签所示, 加入正确的乙醇。



EasySC cfDNA Purification Kit from serum/plasma 血清血浆游离 DNA 提取试剂盒

(离心柱型)

产品概述

EasySC cfDNA Purification Kit from serum/plasma 利用可特异性结合核酸的吸附柱和独特的缓冲液系统, 从新鲜或冷冻的血清、血浆、脑积液等无细胞体液中提取游离 DNA。纯化得到的 DNA 可直接用于 PCR, 定量 PCR, 液相芯片分析, 二代测序等运用。

产品特点

- ❖ 高产量 - 最优化的处理流程, 可最大程度上获得游离 DNA(>50bp);
- ❖ 高浓度 - 低洗脱体积, 保证核酸浓度;
- ❖ 高纯度 - 彻底去除抑制剂和蛋白污染;
- ❖ 高回收率 - 硅胶柱纯化方式, 可回收低至 pg 的核酸分子。

适用范围

从血浆或血清样品中提取游离 DNA。

ABP Biosciences Inc

安迪福诺生物科技(武汉)有限公司

地址: 武汉市东湖新技术开发区高新大道666号

光谷生物城生物创新园C2-4栋五楼

电话: 400-066-7718 邮箱: info@abpbio.com

网址: www.abpbio.com www.abpbio.com.cn



试剂盒组分

Kit Component	D111-1 (50 preps)	D111-2 (200 preps)
Buffer ACL	50 mL	200 mL
Buffer ACB*	50 mL	200 mL
Buffer ACW1*	15 mL	60 mL
Buffer ACW2*	10 mL	30 mL
Buffer AE	15 mL	30 mL
Proteinase K (20 mg/mL)	5 mL	20 mL
Carrier RNA (0.2 mg/mL)	300 μ L	1 mL
Mini Column	50	200
2 mL Collection Tube	50	200

*Buffer ACB 使用前须按瓶子标签所示，加入异丙醇进行稀释；Buffer ACW1, Buffer ACW2 使用前须按瓶子标签所示，加入无水乙醇进行稀释。

保存条件

本试剂盒除 Proteinase K 和 Carrier RNA 外，可在室温保存 12 个月。Proteinase K 和 Carrier RNA 室温运输，收到试剂盒后请保存于-20℃。Buffer ACB 放置时可能会有沉淀出来，使用时须加热至 55℃ 使沉淀消失。

实验准备

在使用之前，请仔细阅读本说明书，以便熟悉每一步的操作。

- 按瓶子标签所示，加入异丙醇稀释 Buffer ACB，并于室温保存。
- 按瓶子标签所示，加入适量的无水乙醇至 Buffer ACW1, Buffer ACW2 中，于室温保存。
- 准备无核酸和核酸酶污染的 Tip 头、离心管。
- 准备无水乙醇, 异丙醇。
- 所有离心均在室温下进行。

实验步骤

- 转移 100 μ L Proteinase K 至 5 mL 离心管中。
- 转移 1 mL 血清、血浆或其它无细胞液体样品至装有 Proteinase K 离心管中。颠倒混匀 3 次。
- 加入 0.8 mL Buffer ACL/Carrier RNA(1 μ g)至样品中。涡旋混匀 30 秒。60℃ 水浴 30 分钟，其间偶尔颠倒数次混匀。
Note: 使用前，Carrier RNA 与 Buffer ACL 预先混匀，每个样品中 Carrier RNA 的用量为 1 μ g (5 μ L)。
- 加入 1.8 mL Buffer ACB(已用异丙醇稀释)至样品中。涡旋混匀 30 秒。冰上放置 5 分钟。
Note: 使用 Buffer ACB 之前，必须用异丙醇稀释，按瓶子上的标签指示。
- 把 DNA Mini Column 连接到真空抽滤盒中。
- 把第四步获得的混合液转移至柱子中并打开真空泵进行抽滤，继续把混合液转移至柱子进行抽滤，直到把所有混合液都转移至柱子中并抽滤完毕。关闭真空泵，让压力下降为零。
Note: 这一步操作也可以采用离心进行。
- 从抽滤器上取下柱子。把柱子装回收集管中。加入 600 μ L Buffer ACW1 至柱子中。8,000 x g 离心 60 秒。
Note: 使用 Buffer ACW1 之前，必须用无水乙醇稀释。按瓶子上的标签指示。
- 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。加入 600 μ L Buffer ACW2 至柱子中。8,000 x g 离心 60 秒。
Note: 使用 Buffer ACW2 之前，必须用无水乙醇稀释。按瓶子上的标签指示。
- 倒弃滤液和收集管，把柱子装回新的收集管中。加入 600 μ L 无水乙醇至柱子中。8,000 x g 离心 60 秒。
- 倒弃滤液，把柱子套回收集管中。12,000 x g 离心 3 分钟。
- 取出柱子，装在 1.5 mL 离心管中，然后放置于 56℃ 烘箱中干燥 10 分钟。
- 把柱子套在一新的 1.5 mL 离心管中。在柱子的膜中央加入 20-30 μ L Buffer AE，放置 3 分钟，13,000 x g 离心 1 分钟。
- 弃去柱子，把 DNA 保存于-20℃。