

中文名: Apostle 使徒 MiniMax™ 游离 DNA (cfDNA) 分离富集试剂盒
(标准版), 25-50 人装

英文名: Apostle MiniMax™ High Efficiency cfDNA Isolation Kit Manual
(Standard Edition), 25-50 Preps

Cat#: A17622-50, Version: P.20

一.产品描述

Apostle 使徒游离 DNA (cfDNA) 分离富集试剂盒是一款专门从血浆、血清或尿液样本中提取游离 DNA 的试剂盒。该试剂盒利用使徒公司全球专利 MiniMax™ 技术, 实现高效、可重复且高得率地获得高质量游离 DNA (cfDNA)。所抽提出的游离 DNA 可广泛适用于多种下游操作, 包括测序以及各类 PCR 等。

二.样本容量

该试剂盒可适用于 25-50 人份的游离 DNA (cfDNA) 分离富集, 人数容量以具体样本体积为准。

三.试剂内容及保存条件:

试剂名称	试剂量	保存条件
纳米磁珠 (Magnetic Nanoparticles)	1.5ml	2-8℃ 冷藏
游离 DNA 裂解/结合液 (cfDNA Lysis/Binding Solution)	125ml	室温, 避光保存
游离 DNA 洗涤液 (cfDNA Wash Solution)	100ml	
游离 DNA 二次洗涤液 (cfDNA 2 nd Wash Solution)	25ml	
游离 DNA 洗脱液 (cfDNA Elution Solution)	1.5ml	

注意: 收到本试剂盒后, 请立即检查所含试剂是否于运输过程中冻存结冰。若发现试剂处于冰冻状态, 请于使用前将所有试剂彻底融化。如磁珠结冰, 请将磁珠于融化后进行超声处理以重悬。

四.客户所需自备耗材试剂:

1. 可调节移液枪 (1ml、200µl、20µl), 枪头, 以及尖底磁力架 (建议使用专门用于 15ml 以及 2ml 离心管款型)
2. 小型台式离心机
3. DNase/RNase-free 离心管 (1.5ml、15ml 及 50ml 型)
4. Vortex 震荡器
5. 100% 无水纯乙醇
6. 水浴锅 (用于样品裂解)
7. 蛋白酶 K (20mg/ml)
8. 20% SDS 溶液

Apostle 使徒 MiniMax™ 游离 DNA (cfDNA) 分离富集试剂盒 (标准版) 仅供科研用途

五.游离 DNA (cfDNA) 分离富集操作步骤

A. 样本裂解 (注意: 该步骤为可选步骤。如您使用 Streck 游离 DNA 采血管, 或含有可能使 DNA 与其他生物分子结合的的稳定剂的采血管, 必须采用; 如果使用游离 DNA 全自动抽提系统, 推荐采用。)

1. 依照下表所示, 于相应容积的大离心管中依次添加各个组分 (样本容量 ≤ 5ml 可使用 15ml 离心管, 样本容量 > 5ml 请使用 50 mL 离心管), 具体选择依照样本量:

试剂	血浆/血清体积			
	1ml	2ml	4ml	8ml
血浆/血清	1ml	2ml	4ml	8ml
蛋白酶 (20mg/ml)	15 µl	30 µl	60 µl	120 µl
20% SDS 溶液	50 µl	100 µl	200 µl	400 µl

注意: 避免将蛋白酶 K 直接与 SDS 混合。

2. 颠倒 10 次以上或简短 vortex 震荡, 以混匀上述大离心管中各组分, 并于 60℃ 孵育 20 分钟。
3. 孵育结束后, 将该含有血浆/血清的大离心管平衡至室温 (或将离心管置于冰水混合物中冰置 5 分钟)。

B. 使用纳米磁珠吸附游离 DNA

4. 依照下表所示制备纳米磁珠结合溶液并混匀 (**注意: 使用绿色管盖的 Apostle MiniMax™ 磁珠试剂前, 请先 vortex 震荡该试剂使之重悬混匀**):

试剂	血浆/血清体积			
	1ml	2ml	4ml	8ml
游离 DNA 裂解/结合液	1.25ml	2.5ml	5ml	10ml
纳米磁珠	15 µl	30 µl	60 µl	120 µl

5. 将制备好的纳米磁珠结合溶液加入大离心管的血浆/血清样本中, vortex 简短震荡或颠倒 10 次以上混匀 (**注意: 避免过度震荡, 防止产生大量泡沫**)。

- 中高速摇晃离心管 10 分钟，以促进游离 DNA 与纳米磁珠的结合。
- 将上述大离心管置于磁力架上静置 5 分钟，或待管内溶液澄清且磁珠聚于管壁。
- 小心弃掉上清（可使用移液枪移走上清，或是在磁力架上小心倾倒掉上清）。

C. 使用洗涤液（Apostle MiniMax™ cfDNA Wash Solution）清洗游离 DNA

- 将上述大离心管从磁力架上取下，加入 1ml 洗涤液（Apostle MiniMax™ cfDNA Wash Solution），并 vortex 震荡以重悬纳米磁珠。
- 将已重悬的纳米磁珠溶液转移入一个新的 1.5ml 离心管，并暂时保留上一步所用的大离心管（该步骤考虑管中可能有残余磁珠，以待清洗）。
- 将该 1.5ml 离心管置于磁力架上静置 1 分钟，待管内磁珠聚集于管壁。
- 利用 1.5ml 离心管内的上清液来润洗上一步所用的大离心管的管壁和盖子，将残余磁珠的润洗液转移回该 1.5ml 离心管，继而弃掉上一步所用的大离心管。
- 将上述 1.5ml 离心管置于磁力架上静置 2 分钟，待管内溶液澄清且磁珠聚于管壁。
- 用移液枪小心弃掉上清。
- 将 1.5ml 离心管从磁力架上取下，加入 1ml 洗涤液（Apostle MiniMax™ cfDNA Wash Solution）并 vortex 震荡 30 秒。
- 将 1.5ml 离心管于台式离心机中快速离心，将粘壁的残液甩至管底，将该离心管置于磁力架上静置 2 分钟，待管内溶液澄清且磁珠聚于管壁。
- 用移液枪小心弃掉上清。

D. 重复洗涤游离 DNA

- 将二次洗涤液（Apostle MiniMax™ cfDNA 2nd Wash Solution）预先以 1:4 的体积比用纯乙醇稀释。处理每个样品需要至少 2ml 制备好的二次洗涤工作液（20%二次洗涤液，80%乙醇）。
- 将 1.5ml 离心管从磁力架上取下，加入 1ml 已经制备好的二次洗涤工作液，并 vortex 震荡 30 秒。

- 将 1.5ml 离心管于台式离心机中快速离心，将粘壁的残液甩至管底，并将该离心管置于磁力架上静置 2 分钟，待管内溶液澄清且磁珠聚于管壁。
- 用移液枪小心弃掉上清。
- 重复 19-21 步操作，对磁珠进行二次洗涤。
- 将 1.5ml 离心管置于磁力架上，开盖 3 分钟室温晾干（**注意**：若环境湿度较大，则可适当延长干燥时间，确保乙醇完全挥发，但无需过度干燥磁珠）。
- 用移液枪小心弃掉残余上清。

E. 从纳米磁珠上洗脱游离 DNA

- 将 1.5ml 离心管从磁力架上取下，加入 MiniMax™ 游离 DNA 洗脱液（Apostle MiniMax™ cfDNA Elution Solution，**蓝色管盖**），加入剂量依照相应样本体积，如下表所示：

血浆/血清体积	1ml	2ml	4ml	8ml
建议游离 DNA 洗脱液体积	20 μl	30 μl	50 μl	80 μl

- 在 Vortex 上充分震荡 1.5ml 离心管以使纳米磁珠重悬，并进一步震荡 5 分钟以使纳米磁珠上的游离 DNA 洗脱下来。
- 将 1.5ml 离心管于台式离心机中快速离心，将粘壁残液甩至管底。并将该离心管置于磁力架上，待管内溶液澄清且磁珠聚于管壁。
- 使用不沾粘、不含有 DNase 和 RNase 的常规离心管收集含有游离 DNA 的上清洗脱液。
- 收获的游离 DNA 产物样品短期可置于 4℃ 冷藏，长期保存需置于 -20℃ 冷冻。
- 如果需要对游离 DNA 样品做定性定量分析，推荐使用 Agilent 所属设备及试剂（Bioanalyzer 2100 以及配套试剂 High Sensitivity DNA Analysis Kit），以确保对样本足够低的检测限（5pg/ul）。