



Magbead Residual DNA Sample Preparation Kit

磁珠法残留DNA样本前处理试剂盒

Cat. No. CW3707S

产品简介

本试剂盒用于生物制品样品的前处理，采用化学裂解和磁珠可从多种样品类型中提取纯化微量 DNA。

本试剂盒适用于多种基质缓冲溶液，可与本公司的多种宿主细胞残留DNA检测试剂盒(PCR-荧光探针法)配合使用，包括 CHO 残留 DNA 检测试剂盒(Cat#CW3027S)、HEK293 残留 DNA 检测试剂盒(Cat#CW3385S)、Vero 残留 DNA 检测试剂盒(Cat#CW3388S) 和 E.coli 残留 DNA 检测试剂盒(Cat#CW3389S)；也可与本公司的支原体检测试剂盒 (Cat#CW3026S) 配合使用。

本产品可以手动操作，也可以通过康为世纪全自动核酸提取仪实现样品的自动处理。

运输条件： 室温运输

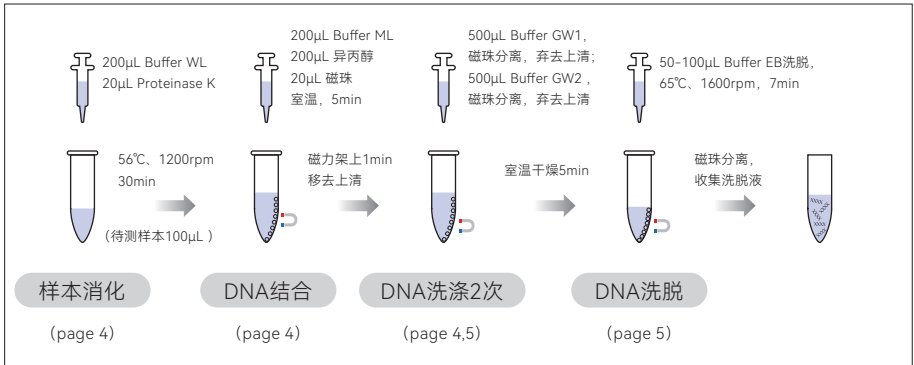
储存条件： 室温 (15 - 30 °C) 保存

产品内容

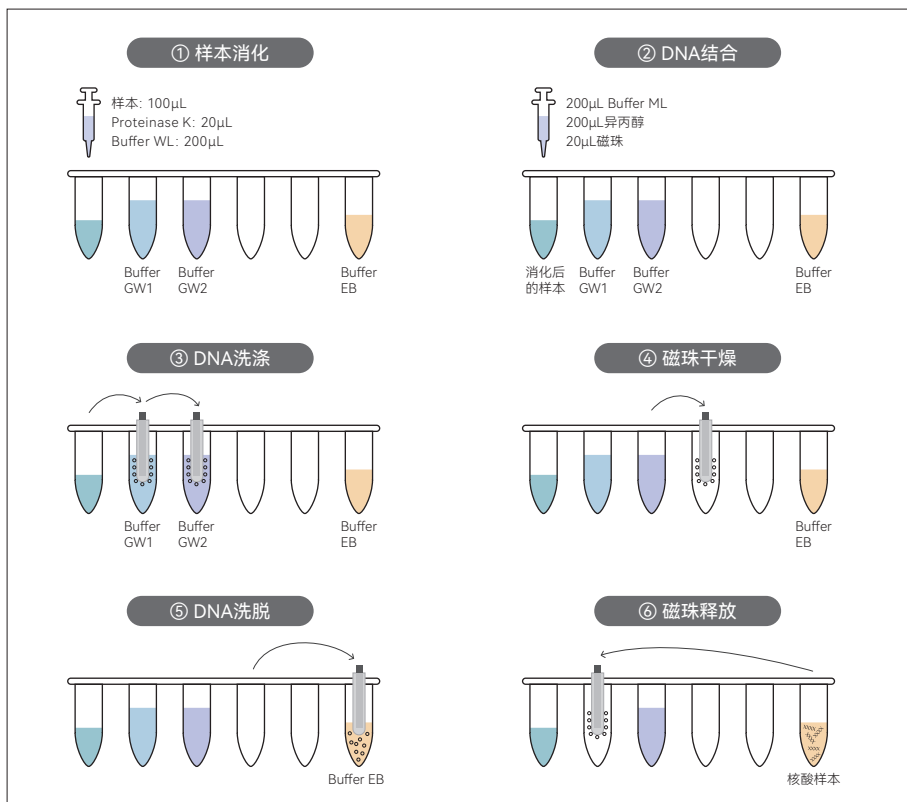
Component	CW3707S 96 preps
Buffer WL	24 mL
Buffer ML	24 mL
Buffer GW1 (concentrate)	80 mL
Buffer GW2 (concentrate)	50 mL
Buffer EB	10 mL
Proteinase K	2×1.25 mL
Magbeads PN	2×1 mL

备注: Buffer WL: 裂解液; Buffer ML: 结合液

手动实验流程示意图



自动化实验流程示意图 (以32通道为例page 5, 6)



使用说明

开启新试剂盒时需完成以下工作

1. 在新开启的 Buffer GW1 中加入 104 mL 无水乙醇，在 Buffer GW2 中加入 125 mL 的无水乙醇，在瓶子上写上标记，配制好的洗涤液应密封，室温保存，防止乙醇挥发。

每次实验前需预先完成以下工作

1. Magbeads PN 每次使用时需将磁珠进行涡旋振荡，直到将磁珠完全混合均匀。
注意：Magbeads PN 严禁冰冻和高速离心，否则可能会对 Magbeads PN 造成不可逆的损害。
2. 设置好恒温混匀仪的温度和转速，56 $^{\circ}$ C、1200rpm；65 $^{\circ}$ C、1600rpm。
注意：若没有恒温混匀仪，准备好水浴锅或金属浴的温度即可：56 $^{\circ}$ C；65 $^{\circ}$ C。

手动 DNA 提取方案

样本消化

1. 将恒温混匀仪设置成 56°C、1200 rpm。
注意：若没有恒温混匀仪，将水浴锅或金属浴的温度设置成 56°C。
2. 准备以下样本(您也可以根据实际情况准备样本)，各取 100 μL 添加到 1.5 mL 离心管中。
 - 3 for each sample
 - 3 for each sample + ERC (加标回收)
 - 3 for NEG (阴性对照)
3. 加入 200 μL Buffer WL 和 20 μL Proteinase K，涡旋震荡 10 秒。
4. 将样本置于恒温混匀仪 56°C、1200 rpm 震荡结合 30 分钟后取下，快速离心将附着在离心管盖和壁上的混合物甩至管底。
注意：若没有恒温混匀仪，将样本置于水浴锅或金属浴中 56°C 孵育 30 分钟，每隔 3-5 分钟涡旋 5 秒混匀。
注意：对于高蛋白浓度的样品，将孵育时间延长至 60 分钟可以提高回收率。

DNA 结合

1. 磁珠使用前应用漩涡振荡器充分振荡重悬。
注意：混合物的外观应该是均匀的。
2. 向每个样本中加入 200 μL Buffer ML、200 μL 异丙醇与 20 μL 磁珠后涡旋震荡 5 秒混匀。
3. 将离心管置于室温孵育 5 分钟，每隔 2 分钟涡旋 5 秒混匀。
4. 瞬时离心将附着在离心管盖和壁上的混合物甩至管底。
5. 将离心管固定于磁力架上，使沉淀靠在磁铁上，然后让管子静置 1 分钟或直至溶液澄清。
6. 在不干扰磁珠的情况下，使用移液枪除去上清液（保持离心管固定于磁力架上）。

DNA 洗涤

1. 从磁力架上取下离心管，向离心管中加入 500 μL Buffer GW1（使用前请检查是否已加入无水乙醇），涡旋震荡 5 秒钟后快速离心将附着在离心管盖和壁上的混合物甩至管底。
2. 将离心管放在磁力架上，然后静置 1 分钟。
注意：大约 1 分钟后，结合 DNA 的磁珠被磁铁捕获。
3. 在不干扰磁珠的情况下，使用移液枪除去上清液（保持离心管固定于磁力架上）。
4. 从磁力架上取下离心管，向离心管中加入 500 μL Buffer GW2（使用前请检查是否已加入无水乙醇），涡旋震荡 5 秒钟后快速离心将附着在离心管盖和壁上的混合物甩至管底。
5. 将离心管放在磁力架上，然后静置 1 分钟。
注意：大约 1 分钟后，结合 DNA 的磁珠被磁铁捕获。

6. 打开所有管盖，然后启动 5 分钟计时器。
7. 在不干扰磁珠的情况下，使用移液枪除去上清液及管底部剩余溶液（保持离心管固定于磁力架上）。
8. 保持所有管盖打开的状态，在室温下干燥不超过 5 分钟。

注意：干燥以除去洗涤溶液中的乙醇，干燥后 DNA 仍与磁珠结合，但不要过度干燥，过度干燥的磁珠不容易重新悬浮。

DNA 洗脱

1. 将恒温混匀仪设置成 65°C、1600 rpm。
注意：若没有恒温混匀仪，将水浴锅或金属浴的温度设置成 65°C。
2. 在每个离心管中加入 50-100 μL Buffer EB。
3. 高速涡旋 20 秒使磁珠充分悬浮于洗脱液中，之后将离心管固定于 65°C、1600 rpm 的恒温混匀上震荡洗脱 7 分钟后取下，快速离心将附着在离心管盖和壁上的混合物甩至管底。
注意：若没有恒温混匀仪，将样本置于水浴锅或金属浴中 65°C 孵育 7 分钟，每隔 2 分钟涡旋 5 秒混匀。
4. 将离心管放在磁力架上，然后静置 1 分钟。
5. 在不干扰磁珠的情况下，将含有 DNA 的上清液转移至新的 1.5 mL 离心管中。
6. 将离心管以最高速度 ($>15,000 \times g$) 离心 3 分钟，收集离心管底部的磁珠，然后将离心管放在磁力架上 1 分钟。
7. 在不干扰磁珠的情况下，将含有 DNA 的上清液转移至新的 1.5 mL 离心管中。
注意：磁珠会抑制 PCR。
将洗脱的 DNA 在冰上保存最多 6 小时，或在 -20°C 下保存最多 24 小时。

自动化 DNA 提取实验方案

您可以使用康为世纪 CWE2100 或 CWE960 全自动化核酸提取平台来自动提取 DNA。

与 CWE2100 提取仪（32通道）匹配

注意：在所有需要移液的步骤中，需将液体加入到孔的底部中心。

1. 准备以下样本：（您也可以根据实际情况准备样本）
 - 3 for each sample
 - 3 for each sample + ERC（加标回收）
 - 3 for NEG（阴性对照）
2. 按下表向 96 DW 深孔板中加入试剂：

位置	试剂及用量
1&7 Column	步骤1 的样本: 100 μ L Proteinase K: 20 μ L Buffer WL: 200 μ L
2&8 Column	Buffer GW1: 500 μ L
3&9 Column	Buffer GW2: 500 μ L
6&12 Column	Buffer EB: 50-100 μ L

- 将磁套与 96 DW 深孔板放入 CWE2100 中，运行“MicroSample-HCD程序”。
- 约 30 分钟后程序运行暂停（即消化步骤完成后），向 1&7 Column 中加入 200 μ L Buffer ML、200 μ L 异丙醇与 20 μ L 磁珠。
- 将深孔板放回仪器中，继续运行程序。约 30 分钟后程序运行结束，将 96 DW 深孔板和磁套从仪器中取出。
- 把 6&12 Column 中的洗脱产物转移至离心管中保存备用。
将洗脱的 DNA 在冰上保存最多 6 小时，或在 -20 $^{\circ}$ C 下保存最多 24 小时。

与 CWE960 提取仪（96通道）匹配

注意：在所有需要移液的步骤中，需将液体加入到孔的底部中心。

- 准备以下样本：（您也可以根据实际情况准备样本）
 - 3 for each sample
 - 3 for each sample + ERC
 - 3 for NEG
- 按下表向 96 DW 深孔板中加入试剂：

位置	试剂及用量
1 Plate	步骤1的样本: 100 μ L Proteinase K: 20 μ L Buffer WL: 200 μ L
2 Plate	Buffer GW1: 500 μ L
3 Plate	Buffer GW2: 500 μ L
6 Plate	Buffer EB: 50-100 μ L

- 将磁套与 96 DW 深孔板放入 CWE960 提取仪中，运行“MicroSample-HCD-96程序”。
- 约 30 分钟后程序运行暂停（即消化步骤完成后），从仪器上取下 1 Plate 向其中加入 200 μ L Buffer ML、200 μ L 异丙醇与 20 μ L 磁珠。

5. 将 1 Plate 放回仪器中，继续运行程序。约 30 分钟后程序运行结束，将 96 DW 深孔板和磁套从仪器中取出。
6. 把 6 Plate 中的洗脱产物转移至离心管中保存备用。
将洗脱的 DNA 在冰上保存最多 6 小时，或在 -20°C 下保存最多 24 小时。