



# Fast Magbead Free-Circulating DNA Maxi Kit

## 快速磁珠法大体积游离DNA提取试剂盒

Cat. No. CW3720S

### 产品简介

该试剂盒适用于从 1-5 mL 血浆、血清、尿液等无细胞体液中纯化回收游离 DNA (Freecirculating / Cell-free DNA)。试剂盒将常温裂解与核酸吸附合为一步, 无冰浴过程, 无需暂停加入结合液和磁珠, 大幅度简化了操作步骤。高盐时, 游离DNA结合于硅基包被的磁珠表面。漂洗后, 游离DNA洗脱于无酶水中。游离DNA的得率与样品类型、储存条件、时间以及个体间差异有很大关系。试剂盒具有提取效率高, 重复性好, 操作过程简单、高效和快速等特点, 纯化得到的游离DNA质量稳定、可靠, 可用于定量PCR、二代测序文库构建等下游常规实验。

### 保存条件

Magbeads ZN 2-8°C, 其余组分室温 (10-30°C)。

### 产品内容

Component	CW3720S 2 mL×48 preps
Buffer CTL	2×72 mL
Buffer CTW	60 mL
Buffer GCW2 (concentrate)	2×10 mL
RNase-Free Water	10 mL
Proteinase K	5 mL
Magbeads ZN	2×1 mL

## 自备仪器、试剂:

### 1. 手动单管操作

- 1) 涡旋振荡仪 (货号: CWVt-01)
- 2) 恒温混匀仪 (货号: CWE1002)
- 3) 16孔磁力架 (1.5mL/2mL) (货号: CWE4001)
- 4) 无水乙醇 (AR分析纯)

### 2. 与核酸提取仪匹配

- 1) 康为CWE240全自动核酸提取仪
- 2) 24 DW Plate and Tips Pack for CWE240 V2 (货号: CW3075S)
- 3) 无水乙醇 (AR分析纯)

## 实验前准备及重要注意事项:

1. 第一次使用前应按试剂瓶标签说明先在Buffer GCW2中加入无水乙醇。
2. Magbeads ZN严禁冰冻和高速离心, 否则可能会对Magbeads ZN造成不可逆的损害。Magbeads ZN每次使用时请充分振荡30秒混合均匀。
3. 使用前请先检查Buffer CTL和Buffer CTW是否出现结晶或沉淀, 如有结晶或沉淀现象, 可在50 °C水浴几分钟, 即可恢复澄清。
4. 新鲜样本应尽快处理或分装后在-70 °C下冷冻, 避免反复冻融, 冷冻后的样本融化后需2000×g离心1分钟然后取上清进行实验。

## 操作步骤 (手动, 以2 mL血浆为例)

1. 向离心管中依次加入100  $\mu$ L Proteinase K、2 mL血浆、3 mL Buffer CTL、30  $\mu$ L Magbeads ZN。其他样本体积请参照附表。

**注意:** 为避免Proteinase K失活, 请按照试剂顺序依次加入, 请勿将Buffer CTL直接加到Proteinase K溶液中。

2. 将样本和试剂充分混合后, 置于恒温混匀仪上以室温1200 rpm振荡20分钟或者置于圆盘混匀仪以70 rpm/min混匀20分钟, 使磁珠保持悬浮状态且与核酸充分结合。孵育结束后短暂离心来去除管壁内壁的液滴。

- 将离心管放于磁力架上静置2分钟，待磁珠吸附到磁力架上，管内溶液变澄清后，翻转离心管冲洗瓶盖上残留磁珠，再放置1分钟左右，之后弃去溶液。
- 加入750  $\mu\text{L}$  Buffer CTW，涡旋振荡30秒，使磁珠充分悬浮，短暂离心以去除管盖内壁的液滴。  
注意：可将步骤4中所有液体和磁珠转移到2 mL离心管中进行后续操作。如果管壁上有残留磁珠，可再加入100  $\mu\text{L}$  Buffer CTW漂洗，然后转移至离心管中。
- 将离心管固定于磁力架上静置1分钟，待磁珠全部吸附时，小心弃去溶液。
- 加入750  $\mu\text{L}$  Buffer GCW2（使用前请检查是否已加入无水乙醇），涡旋振荡30秒，短暂离心以去除管盖内壁的液滴。
- 将离心管固定于磁力架上静置1分钟，待磁珠全部吸附时，小心弃去溶液。
- 重复步骤6-7。
- 将离心管固定于磁力架上，开盖室温晾干5-10分钟。  
注意：乙醇残留会抑制酶促反应，所以晾干时保证乙醇挥发干净，待磁珠表面变为哑光且不干裂即可。但亦勿过度干燥磁珠，以免难以洗脱。
- 将离心管从磁力架上取下，向离心管中加入50-100  $\mu\text{L}$  RNase-Free Water后涡旋振荡使磁珠充分悬浮于洗脱液中，之后将离心管固定于室温1600 rpm的恒温混匀仪上振荡洗脱10分钟。
- 将离心管固定于磁力架上静置2分钟，待磁珠完全吸附于离心管侧壁后用移液器将洗脱液转移至新的离心管中-20 $\pm$ 5 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

## 操作步骤（与CWE240匹配，以2 mL和4 mL样本为例）

- 按下表向24 DW深孔板中加入试剂：

样本体积	2 mL	4 mL
位置	试剂及用量	试剂及用量
Plate 1	Proteinase K: 100 $\mu\text{L}$	Proteinase K: 200 $\mu\text{L}$
	样本: 2 mL	样本: 4 mL
	Buffer CTL: 3 mL	Buffer CTL: 6 mL
Plate 2	Buffer CTW: 0.75 mL	Buffer CTW: 1.5 mL
Plate 3	Buffer GCW2: 0.75 mL	Buffer GCW2: 1.5 mL
	Magbeads ZN: 30 $\mu\text{L}$	Magbeads ZN: 60 $\mu\text{L}$
Plate 4	Buffer GCW2: 0.75 mL	Buffer GCW2: 1.5 mL
Plate 5	RNase-Free Water: 100 $\mu\text{L}$	RNase-Free Water: 100 $\mu\text{L}$

2. 将深孔板置于对应的位置，磁套Tips置于Plate 3，运行提取程序。
3. 约55分钟后程序运行结束。把“Plate 5”中的DNA洗脱产物转移至离心管中-20±5℃保存备用。

**附表：不同样本体积试剂加入量**（裂解与结合时请按照顺序依次加入溶液）

步骤	样本体积	1 mL	2 mL	3 mL	4 mL	5 mL
裂解与结合	Proteinase K	50 μL	100 μL	150 μL	200 μL	250 μL
	样本体积	1 mL	2 mL	3 mL	4 mL	5 mL
	Buffer CTL	1.5 mL	3 mL	4.5 mL	6 mL	7.5 mL
	Magbeads ZN	20 μL	30 μL	45 μL	60 μL	75 μL
漂洗	Buffer CTW	0.5 mL	0.75 mL	1.1 mL	1.5 mL	1.5 mL
	Buffer GCW2	0.5 mL	0.75 mL	1.1 mL	1.5 mL	1.5 mL
	Buffer GCW2	0.5 mL	0.75 mL	1.1 mL	1.5 mL	1.5 mL