

MolPure[®] Magnetic Circulating Cell-Free DNA Kit 血浆、血清游离 DNA 提取试剂盒

18382ES

产品使用说明书

Ver. CN20240921

目录

产品简介	1
产品信息	1
组分信息	1
储存条件	1
实验前准备	1
使用说明	2
手动法提取操作步骤	2
搭配自动化提取仪器操作步骤	2
注意事项	4
附录:	5

产品简介

MolPure® Magnetic Circulating Cell-Free DNA Kit 适用于从 0.3-4 mL 的血浆、血清样本中的提取游离 DNA。本产品采用独特的磁珠和精心优化的缓冲体系，可最大限度的纯化回收游离 DNA（每毫升血浆通常为 1-100 ng）。提取的核酸产量高，质量稳定可靠，最大限度的去除抑制物，适用于各种下游应用实验，如建库、二代测序、qPCR 等。

产品信息

货号	18382ES20 / 18382ES50 / 18382ES70
规格	20 T / 50 T / 200T (对应 1mL 样本)

组分信息

类别	编号	组分名称	18382ES20	18382ES50	18382ES70
Part I	18382-A	蛋白酶 K 溶液 (20 mg/mL)	1 mL/支×1	1.25 mL/支×2	10 mL/瓶×1
	18382-B	磁珠悬浮液	600 µL/支×1	750 µL/支×2	6 mL/瓶×1
Part II	18382-C	裂解液	1 mL/支×1	2.5 mL/瓶×1	10 mL/瓶×1
	18382-D	结合液	25 mL/瓶×1	65 mL/瓶×1	125 mL/瓶×2
	18382-E	洗涤液 A	32 mL/瓶×1	80 mL/瓶×1	320 mL/瓶×1
	18382-F	洗涤液 B	45 mL/瓶×1	110 mL/瓶×1	440 mL/瓶×1
	18382-G	洗脱液	2 mL/瓶×1	5 mL/瓶×1	15 mL/瓶×1

储存条件

Part I 组分 2~8°C 保存，有效期 18 个月。

Part II 组分室温保存，有效期 18 个月。

实验前准备

自备设备和试剂：磁性分离架（适用于 1.5 mL 和 15 mL 离心管），水浴锅或金属浴，涡旋振荡器，旋转混匀仪，1.5 mL 和 15 mL 离心管等。

使用说明

不同体积样本所用试剂体积如下表

试剂	血浆/血清体积			
	300 μ L	1 mL	2 mL	4 mL
蛋白酶 K	15 μ L	50 μ L	100 μ L	200 μ L
血浆样本	300 μ L	1 mL	2 mL	4 mL
样本裂解液	15 μ L	50 μ L	100 μ L	200 μ L
结合液	375 μ L	1.25 mL	2.5 mL	5 mL
磁珠悬浮液	9 μ L	30 μ L	60 μ L	120 μ L
洗脱体积	10~20ul	30 μ L	50 μ L	50~80 μ L

A:手动法提取操作步骤

以 2 mL 样本操作为例：

1. 根据上表，向 15 mL 离心管中加入 2 mL 血浆样本和 100 μ L 蛋白酶 K，颠倒混匀后加入 100 μ L 裂解液，短暂涡旋混匀后，60 $^{\circ}$ C 孵育 20 min，期间需上下颠倒混匀 2-3 次。
2. 冷却至室温(5~10 min)，向离心管中加入 2.5 mL 结合液和 60 μ L 磁珠（充分涡旋震荡混匀），短暂涡旋混匀，室温中速旋转孵育 10 min。
3. 将上述离心管转移至磁力架中，静置约 5 min 观察到磁珠完全吸附在管壁上，小心吸除上清液。
4. 向上述离心管中加入 800 μ L 洗涤液 A，涡旋振荡 20 s 使磁珠彻底分散，将磁珠和洗涤液 A 全部转移至洁净的 1.5 mL 离心管中，并保留该 15 mL 离心管以供步骤 5 润洗。
5. 将 1.5 mL 离心管放入磁力架中，静置约 1 min，待溶液澄清后，吸取上清液转移至步骤 4 保留 15 mL 离心管中进行润洗，并将其全部转移至包含磁珠的 1.5 mL 离心管中，待溶液澄清后小心吸弃上清液。
6. 向 1.5 mL 离心管中加入 800 μ L 洗涤液 A，涡旋振荡 20 s，瞬时离心后将离心管转移至磁力架，待溶液澄清后小心吸弃上清液。
7. 向离心管中加入 1 mL 洗涤液 B，涡旋振荡 1 min。
8. 瞬时离心后将离心管转移至磁力架，待溶液澄清后小心吸弃上清液。
9. 重复步骤 7-8。
10. 短暂离心后将离心管放置在磁力架上，小心吸除残余液体。
11. 开盖室温放置 2~5 min 使乙醇充分挥发，观察到磁珠表面无液体或刚出现龟裂即可。（注：磁珠不能过度干燥，过度干燥会导致洗脱效率下降。若室温过低可适当延长晾干时间。）
12. 向晾干后的离心管中加入洗脱液，涡旋振荡 5 min，短暂离心后将离心管置于磁力架上直至磁珠彻底吸附，收集洗脱液（注意不要吸到磁珠）。
13. 核酸溶液短期保存于 -20 $^{\circ}$ C，长期保存需放置于 -80 $^{\circ}$ C。

B:搭配翌圣 16/48 通道自动化提取操作

1. 300 μ L 微量样本可配套自动化仪器使用，按照**手动法提取操作步骤**完成步骤 1，室温静置待样本管恢复至室温。

2. 按下表向 96 深孔板中添加上述前处理样本、结合液等试剂，加入前请确保，磁珠已充分震荡。

位置	试剂	体积
第 1/7 列	前处理样本	约 330 μ L
	结合液	375 μ L
第 2/8 列	洗涤液 A	700 μ L
第 3/9 列	洗涤液 A	700 μ L
第 4/10 列	洗涤液 B	700 μ L
	磁珠	9 μ L
第 5/11 列	洗脱液	40 μ L
第 6/12 列	洗涤液 B	700 μ L

3. 加完上述试剂后，将 96 深孔板和八联磁棒套正确安放于自动提取仪中，运行如下提取程序，程序运行结束后，小心收集洗脱液。核酸溶液短期保存于-20 $^{\circ}$ C，长期保存需放置于-80 $^{\circ}$ C。

翌圣 16 通道自动化提取仪 AP-16S 提取程序

步骤	第 1 步	第 2 步	第 3 步	第 4 步	第 5 步	第 6 步	第 7 步	第 8 步
工位	4	1	2	3	4	6	5	6
等待时间	0:00:00	0:00:00	0:00:00	0:00:00	0:00:00	0:00:00	0:02:00	0:00:00
混合模式	2	2	3	3	3	3	3	3
混合时间	0:00:20	0:10:00	0:01:00	0:01:00	0:01:00	0:00:30	0:05:00	0:00:20
是否暂停	否	否	否	否	否	否	否	否
吸磁时间	0:01:00	0:01:30	0:00:40	0:00:40	0:00:30	0:00:30	0:01:30	0:00:00
体积	700	700	700	700	700	700	40	700
温度	--	25	--	--	--	--	25	-

注：此程序可直接在 16 通道提取仪选择预设程序 18382 直接使用，且混合模式与 48 通道不同，不可混用。

翌圣 48 通道自动化提取仪 AP-48N 提取程序

步骤	第 1 步	第 2 步	第 3 步	第 4 步	第 5 步	第 6 步	第 7 步	第 8 步
工位	4	1	2	3	4	6	5	6
等待时间	00:00:00	00:00:00	00:00:00	00:00:00	00:00:00	00:00:00	00:02:00	00:00:00
混合模式	2	2	1	1	1	1	1	2
混合时间	00:00:20	00:10:00	00:01:00	00:01:00	00:01:00	00:00:30	00:05:00	00:00:20
是否暂停	否	否	否	否	否	否	否	否
吸磁时间	00:01:30	00:01:30	00:00:40	00:00:40	00:00:30	00:00:30	00:01:30	00:00:00
体积	700	700	700	700	700	700	40	700
温度	--	25	--	--	--	--	25	--

混合模式 1：对应速度为 300000；混合模式 2：对应速度为 200000

C:搭配翌圣 96 通道自动化提取操作

1. 300 μL 微量样本可配套自动化仪器使用，按照**手动法提取操作步骤**完成步骤 1，室温静置待样本管恢复至室温。
2. 按下表向 96 深孔板中添加上述前处理样本、结合液等试剂，加入前请确保磁珠已充分震荡。

位置	试剂	体积
板位 1	前处理样本	约 330 μL
	结合液	375 μL
板位 2	洗涤液 A	700 μL
板位 3	洗涤液 A	700 μL
板位 4	洗涤液 B	700 μL
	磁珠	9 μL
板位 5	洗涤液 B	700 μL
板位 6	洗脱液	40 μL

3. 加完上述试剂后，将 96 深孔板和 96 深孔磁棒套正确安放于自动提取仪中，运行如下提取程序，程序运行结束后，小心收集洗脱液。核酸溶液短期保存于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ，长期保存需放置于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$

翌圣 96 通道自动化提取仪 AP-96N 提取程序

步骤	第 1 步	第 2 步	第 3 步	第 4 步	第 5 步	第 6 步	第 7 步	第 8 步
工位	4	1	2	3	4	5	6	5
等待时间	00:00:00	00:00:00	00:00:00	00:00:00	00:00:00	00:00:00	00:02:00	00:00:00
混合模式	2	2	1	1	1	1	1	1
混合时间	00:00:20	00:10:00	00:01:00	00:01:00	00:01:00	00:00:30	00:05:00	00:00:20
是否暂停	否	否	否	否	否	否	否	否
吸磁时间	00:01:30	00:01:30	00:00:40	00:00:40	00:00:30	00:00:30	00:01:30	00:00:00
体积	700	700	700	700	700	700	40	700
温度	--	25	--	--	--	--	25	--

混合模式 1: 对应速度为 300000

混合模式 2: 对其速度为 200000

注意事项

1. 注意观察各溶液是否有析出或浑浊（尤其是裂解液，结合液组分），如有浑浊可 $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 加热处理使溶液澄清。
2. 磁珠应 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冷藏保存，避免冻存或反复冻融，以免影响使用效果。
3. 洗脱时可能存在磁珠残留，吸取核酸时应尽量避免吸入磁珠。
4. 样本保存时间过长、血浆含有基因组核酸或者样本在室温放置过久均会导致目标核酸得率降低。为了保证提取得率，样本可以是新鲜、冷冻状态下未经冻融或者在 cf DNA 保存管中有效保存的血浆和血清。血浆的分离与储存建议见附录 1。
5. 为了您的安全和健康，请穿实验服并佩戴一次性手套操作。
6. 本产品仅作科研用途。

附录 1:

血浆的分离及储存

1. 提前将离心机预冷至 4 °C，将采集管中的全血放入尺寸合适的离心机中。
2. 4 °C，1900 ×g (3000 rpm)下离心 10 分钟。
3. 小心地吸取血浆上清液，注意不要吸入淡黄色分层。大约 10 mL 的样本可以分离得到 4-5 mL 血浆。
4. 将上一步的血浆上清液转移到新的离心管中。
5. 以 16000 ×g 离心 10 分钟，温度设置为 4 °C。
6. 使用移液管，小心地将上清液转移到一个新的离心管中，不要干扰到底部沉淀。
7. 若分离得到的血浆在当天内会被使用，可将其置于 2-8 °C 保存。如果当天不能使用，应将其保存在 -90 至 -65 °C，待使用时，再将其在室温下解冻。
8. 若解冻后的血浆出现少许沉淀，可以按照下列步骤去除沉淀：
 - 1) 在离心机中以 16000 ×g 离心 10 分钟，温度设置为 4 °C；
 - 2) 将上清液转移到新的试管中，然后开始核酸提取。



帮助客户创造价值，让世界更健康更快乐