

M3298 Mag-Bind[®] cfDNA Kit

简易中文步骤

√实验前请按说明书正确稀释以下试剂:

- 使用【无水乙醇】对 SPW Buffer 进行稀释, 稀释后室温保存

货号	加入量
M3298-00	10mL
M3298-01	100mL
M3298-02	200mL (每瓶)

- 注意在使用前需将 Mag-Bind[®] Particles CH 涡旋或摇晃至完全重悬。

操作步骤:

A. 1mL 血浆/血清

1. 向 15mL 离心管 (自备) 中加入 500-1000 μ l 的血浆/血清样品, 如体积小于 1mL, 则需加入 Elution Buffer (试剂盒内提供) 将其体积补足至 1mL;
2. 加入 15 μ l Proteinase K Solution 和 67 μ l DS Buffer, 最大速度涡旋混匀;
3. 在 60 $^{\circ}$ C 孵育 20min, 孵育期间每 10min 取出涡旋混匀一次;
4. 孵育结束后, 室温静置 10min;

选做: 如果目的片段大小小于 150 bp, 请参考英文说明书第 5 页对于小片段的操作, 再进行步骤 5。修改后的操作需要多加 JSB Buffer。如 JSB Buffer 不够用可提供单独购买。
5. 加入 1mL JSB Buffer, 最大速度涡旋混匀 30s 或吸打混匀;
6. 加入 10 μ l Mag-Bind[®] Particles CH, 颠倒混匀 10 次或吸打混匀, 并于室温连续混匀 10 分钟, 孵育过程中切勿静置, 必须持续轻柔颠倒或低速涡旋保持磁珠液和上清液呈混合状态。切勿使用高速涡旋以免产生大量泡沫从而降低产量。涡旋速度应设置为磁珠液在上清液中保持重悬状态即可;
7. 从中转移 1mL 混合液至 1.5mL 离心管 (自备);
8. 把第 7 步的 1.5mL 离心管置于磁力分离架上, 室温等待至溶液变得完全澄清, 磁珠完全吸附于管内一侧;
9. 保持吸附状态, 小心吸除上清, 过程中切勿吸取或触碰到磁珠致磁珠损失。吸除所有上清后, 移除磁力分离架;
10. 继续转移第 6 步余下的混合液至同一离心管进行核酸吸附。每次转移 1mL 混合液

并置于磁力分离架上，室温等待至溶液变得完全澄清，磁珠完全吸附于管内一侧。保持吸附状态，小心吸除上清，过程中切勿吸取或触碰到磁珠致磁珠损失。吸除所有上清后，移除磁力分离架；

11. 加入 500 μ l GT7 Buffer，涡旋混匀 2min；

Note: Mag-Bind[®] Particles CH 的彻底涡旋对提取 DNA 的纯度至关重要。

12. 把离心管置于磁力分离架上，室温等待至磁珠完全吸附于管内一侧。保持吸附状态，小心吸除上清并移除磁力分离架；

Note: GT7 Buffer 在涡旋过程中可能会产生气泡，吸除上清时注意把离心管盖上的泡沫一并吸除。

13. 重复步骤 11-12 使用 GT7 Buffer 进行二次洗涤；

14. 加入 500 μ l SPW Buffer，涡旋 2 分钟或上下吸打 20 次充分重悬磁珠；

Note: SPW Buffer 在使用前必须按照说明书加入无水乙醇稀释。

15. 把离心管置于磁力分离架上，室温静置等待至磁珠完全吸附于管内一侧。小心吸除上清并移除磁力分离架；

16. 重复步骤 14-15 使用 SPW Buffer 再次洗涤；

17. 把离心管置于磁力分离架上 25min，以干燥磁珠；

18. 把离心管从磁力分离架上取出，向离心管内加入 30-60 μ l Elution Buffer，涡旋或上下吸打 20 次充分重悬磁珠，室温放置 5min；

19. 把离心管置于磁力分离架上，室温等待至溶液变得完全澄清，磁珠完全吸附于管内一侧。小心转移上清 DNA 产物至 1.5mL 离心管（自备）；

20. 合盖或封口后置于-20 $^{\circ}$ C保存。

B. 2mL 血浆/血清

1. 向 15mL 离心管（自备）中加入 2mL 的血浆/血清样品，如体积小于 2mL，则需加入 Elution Buffer（试剂盒内提供）将其体积补足至 2mL；

2. 加入 30 μ l Proteinase K Solution 和 135 μ l DS Buffer，最大速度涡旋混匀；

3. 在 60 $^{\circ}$ C 孵育 25min，孵育期间每 10min 取出涡旋混匀一次；

4. 孵育结束后，室温静置 10min；

选做：如果目的片段大小小于 150 bp，请参考英文说明书第 5 页对于小片段的操作，

再进行步骤 5。修改后的操作需要多加 JSB Buffer。如 JSB Buffer 不够用可提供单独购买。

5. 加入 2mL JSB Buffer，最大速度涡旋混匀 30s 或吸打混匀；
6. 加入 20 μ L Mag-Bind[®] Particles CH，颠倒混匀 10 次或吸打混匀，并于室温连续混匀 10 分钟，孵育过程中切勿静置，必须持续轻柔颠倒或低速涡旋保持磁珠液和上清液呈混合状态。切勿使用高速涡旋以免产生大量泡沫从而降低产量。涡旋速度应设置为磁珠液在上清液中保持重悬状态即可；
7. 将离心管置于磁力分离架上，室温等待至溶液变得完全澄清，磁珠完全吸附于管内一侧；
8. 保持吸附状态，小心吸除上清，过程中切勿吸取或触碰到磁珠致磁珠损失。吸除所有上清后，移除磁力分离架；
9. 加入 1mL GT7 Buffer，涡旋混匀 2min；

Note: Mag-Bind[®] Particles CH 的彻底涡旋对提取 DNA 的纯度至关重要。

10. 将重悬的 Mag-Bind[®] Particles CH 转移至新的 1.5/2.0mL 离心管（自备）中，后续步骤可在 1.5/2.0mL 离心管中完成；
11. 把离心管置于磁力分离架上，室温等待至磁珠完全吸附于管内一侧。保持吸附状态，小心吸除上清并移除磁力分离架；
12. 另加入 1mL GT7 Buffer，涡旋混匀 2min；

Note: Mag-Bind[®] Particles CH 的彻底涡旋对提取 DNA 的纯度至关重要。

13. 把离心管置于磁力分离架上，室温等待至磁珠完全吸附于管内一侧。保持吸附状态，小心吸除上清并移除磁力分离架；
14. 加入 1mL SPW Buffer，涡旋 2min 或上下吸打 20 次充分重悬磁珠；

Note: SPW Buffer 在使用前必须按照说明书加入无水乙醇稀释。

15. 把离心管置于磁力分离架上，室温静置等待至磁珠完全吸附于管内一侧。小心吸除上清并移除磁力分离架；
16. 重复步骤 14-15 使用 SPW Buffer 再次洗涤；
17. 打开管盖，把离心管置于磁力分离架上 25min，以干燥磁珠；
18. 把离心管从磁力分离架上取出，向离心管内加入 50-100 μ L Elution Buffer，涡旋或

上下吸打 20 次充分重悬磁珠，室温放置 5min；

19. 把离心管置于磁力分离架上，室温等待至溶液变得完全澄清，磁珠完全吸附于管内一侧。小心转移上清 DNA 产物至 1.5mL 离心管（自备）；

20. 合盖或封口后置于-20℃保存。

C. 4mL 血浆/血清

1. 向 15mL 离心管或 24 孔深孔板（自备）中加入 4mL 的血浆/血清样品，如体积小于 4mL，则需加入 Elution Buffer（试剂盒内提供）将其体积补足至 4mL；

2. 加入 60μl Proteinase K Solution 和 270μl DS Buffer，最大速度涡旋混匀；

3. 在 60℃孵育 30min，孵育期间每 10min 取出涡旋混匀一次；

4. 孵育结束后，室温静置 10min；

选做：如果目的片段大小小于 150 bp，请参考英文说明书第 5 页对于小片段的操作，再进行步骤 5。修改后的操作需要多加 JSB Buffer。如 JSB Buffer 不够用可提供单独购买。

5. 加入 4mL JSB Buffer，最大速度涡旋混匀 30s 或吸打混匀；

6. 加入 30μl Mag-Bind® Particles CH，颠倒混匀 10 次或吸打混匀，并于室温连续混匀 10 分钟，孵育过程中切勿静置，必须持续轻柔颠倒或低速涡旋保持磁珠液和上清液呈混合状态。切勿使用高速涡旋以免产生大量泡沫从而降低产量。涡旋速度应设置为磁珠液在上清液中保持重悬状态即可；

7. 将离心管置于磁力分离架上，室温等待至溶液变得完全澄清，磁珠完全吸附于管内一侧；

8. 保持吸附状态，小心吸除上清，过程中切勿吸取或触碰到磁珠致磁珠损失。吸除所有上清后，移除磁力分离架；

9. 加入 1mL GT7 Buffer，涡旋混匀 5min；

Note：Mag-Bind® Particles CH 的彻底涡旋对提取 DNA 的纯度至关重要。

10. 如果前面步骤中使用的是 15mL 离心管，需将重悬的 Mag-Bind® Particles CH 转移至新的 1.5/2.0mL 离心管（自备）中，后续步骤可在 1.5/2.0mL 离心管中完成；如果前面步骤中使用 24 孔深孔板，则可继续使用 24 孔深孔板和 24 孔板磁力架；

11. 把离心管或板置于磁力分离架上，室温等待至磁珠完全吸附于管内一侧。保持吸附

状态，小心吸除上清并移除磁力分离架；

12. 另加入 1mL GT7 Buffer，涡旋混匀 5min；

Note: Mag-Bind[®] Particles CH 的彻底涡旋对提取 DNA 的纯度至关重要。

13. 把离心管置于磁力分离架上，室温等待至磁珠完全吸附于管内一侧。保持吸附状态，小心吸除上清并移除磁力分离架；

14. 加入 1mL SPW Buffer，涡旋 5min 或上下吸打充分重悬磁珠；

Note: SPW Buffer 在使用前必须按照说明书加入无水乙醇稀释。

15. 把离心管/板置于磁力分离架上，室温静置等待至磁珠完全吸附于管内一侧。小心吸除上清并移除磁力分离架；

16. 重复步骤 14-15 使用 SPW Buffer 再次洗涤；

17. 把离心管置于磁力分离架上 25min，以干燥磁珠；

18. 把离心管从磁力分离架上取出，向离心管内加入 50-100 μ l Elution Buffer，涡旋或上下吸打 20 次充分重悬磁珠，室温放置 5min；

19. 把离心管置于磁力分离架上，室温等待至溶液变得完全澄清，磁珠完全吸附于管内一侧。小心转移上清 DNA 产物至 1.5mL 离心管或干净的微孔板（自备）中；

20. 合盖或封口后置于-20 $^{\circ}$ C保存。

中文翻译仅供辅助阅读，详情请以英文说明书为准