VAHTS® Serum/Plasma Circulating DNA Kit

N902

Version 21.1

产品概述

VAHTS Serum/Plasma Circulating DNA Kit基于超顺磁性的磁性粒子纯化技术，适用于从200 µl - 2 ml的血清、血浆等无细胞体液样品中提取高质量游离核酸。本试剂盒针对低分子量核酸定向优化，具有提取效率高、核酸纯度高、重复性强等优点。得到的cfDNA质量稳定可靠，可直接用于定量PCR和二代测序文库构建等下游常规实验。本试剂盒可与转移液体法的核酸提取仪配套使用，简单、快速的进行大规模提取，大大降低实验者的工作量和实验中的人为误差。

产品组分

	组　分	N902-01 (50 rxns)	N902-02 (200 rxns)
Box1	VAHTS Particles G	2 ml	8 ml
	Proteinase K	35 mg	4 × 35 mg
	Protease Dissolve Buffer	2.5 ml	8 ml
Box2	Buffer SDS	6 ml	20 ml
	Buffer B	45 ml	160 ml
	Buffer W1	40 ml	120 ml
	Buffer W2	25 ml	2 × 40 ml
	Elution Buffer	10 ml	20 ml

保存条件

Box1，2 ~ 8℃保存； 溶解后的Proteinase K须保存于-30 ~ -15℃。

Box2，室温保存。

适用范围

适用于200 µl - 2 ml血清、血浆等样本。

注意事项

1. 为避免Proteinase K活性下降，应使用新制备的Proteinase K。请勿长时间室温放置并避免反复冻融，以免影响其活性。若条件允许建议Proteinase K分装保存，每次用完保存于-30 ~ -15℃。
2. VAHTS Particles G不可冰冻、离心。冰冻和离心可能会对磁珠成分造成不可逆的损害。
3. VAHTS Particles G在使用前请务必涡旋振荡20 sec以上使其充分混匀。
4. 第一次使用前应按照试剂瓶标签的说明在Buffer W2中加入无水乙醇并做好标记。
5. 对于使用游离DNA保存管保存的血浆，样本处理时60℃孵育步骤不可省略。
6. 磁珠开盖晾干时请避免乙醇残留，否则可能会影响提取效率。一般观察磁珠表面无反光，无明显乙醇气味即为晾干。
7. 建议最后一步转移上清时留2 - 3 µl液体，以免吸到微量磁珠影响后续实验。
8. 用于提取的血清/血浆样品应尽量新鲜且避免反复冻融，否则可能会导致提取的DNA片段较小，提取量低。
9. 自动提取流程请参考手动流程和自动核酸纯化仪建议的程序进行设定。

准备工作

提取前准备：

1. 溶解Proteinase K：加入1.75 ml Protease Dissolve Buffer至Proteinase K干粉中，颠倒混匀10 - 15次让Proteinase K充分溶解，保存于-20℃。
2. 按标签所示，对于N902-01，加入100 ml无水乙醇至Buffer W2；对于N902-02，每瓶Buffer W2使用前加入160 ml无水乙醇，混匀室温保存。

针对不同起始量血浆，请按下表中体积添加各组分（针对高敏流程）

组　分	500 µl	1 ml	2 ml
VAHTS Particles G	30 µl	60 µl	120 µl
Proteinase K (Dissolved)	25 µl	50 µl	100 µl
Buffer SDS	75 µl	150 µl	300 µl
Buffer B	625 µl	1.25 ml	2.5 ml
Buffer W1	500 µl	1 ml	2 ml
Buffer W2	500 µl	1 ml	2 ml
Elution Buffer	30 - 50 µl	50 - 100 µl	100 - 150 µl

▲本试剂盒样本兼容范围为200 µl - 2 ml，可根据实际起始体积倍数关系调整需要加入的各组分溶液体积。

实验流程

步骤一：血浆制备

1. 将全血轻柔颠倒混匀，分离到离心管中，1,800 rpm（300 × g）室温离心20 min。
2. 分离上清血浆至新的离心管。
3. 再次室温7,900 rpm（6,000 × g）离心5 min以彻底去除残留细胞及碎片。

步骤二：样本处理

该方案以500 µl起始量为例，从血清、血浆样品中提取游离DNA。其它样本起始量体积（1 ml/2 ml）请参考准备工作列表。请根据采血管类型选择相应的提取流程。

- 快速流程（适用于普通EDTA抗凝管采集的新鲜血液）
  1. 在2 ml离心管中，加入25 µl Proteinase K和30 µl VAHTS Particles G。
  2. 取500 µl血清或血浆样品至上述含Proteinase K的离心管中，振荡混匀5 sec。
  3. 加入625 µl Buffer B至样品中，室温振荡混匀10 - 15 min，其间颠倒混匀数次，瞬时离心收集。进入第三步cfDNA提取操作。
- 高敏流程（适用于游离DNA保存管保存的血浆，对潜在的DNA-蛋白交联具有更强的去除效率）
  1. 在2 ml离心管中，加入500 µl血清或血浆样品。
  2. 加入25 µl Proteinase K和75 µl Buffer SDS，振荡混匀5 sec。60℃温育10 - 20 min。
  3. 加入625 µl Buffer B和30 µl VAHTS Particles G至样品中，室温振荡混匀6 min，其间颠倒混匀数次，瞬时离心收集。进入第三步cfDNA提取操作。

步骤三：cfDNA提取

1. 将离心管置于磁力架上，静置约3 - 5 min，待溶液澄清后，小心移除上清。
2. 加入500 µl Buffer W1，涡旋混匀15 sec，瞬时离心收集。
3. 将离心管置于磁力架上，静置约3 - 5 min，待溶液澄清后，小心移除上清。
4. 加入500 µl Buffer W2（请在首次使用前确认已参考“准备工作”说明加入无水乙醇），涡旋混匀15 sec，瞬时离心收集。
5. 将离心管置于磁力架上，静置约3 - 5 min，待溶液澄清后，小心移除上清。
6. 重复第4 - 5步一次。
7. 短暂离心，将离心管置于磁力架上，小心吸尽上清。
8. 空气干燥5 - 10 min至磁珠表面无反光。
9. 加入30 - 50 µl Elution Buffer或灭菌水等洗脱液，涡旋打散磁珠。静置3 - 5 min，其间轻轻振荡1 - 2次加速DNA溶解。
10. 将离心管置于磁力架上，静置3 min。转移DNA溶液至新的1.5 ml离心管中。

*所有商标均属于各自商标所有者的财产。某些商标并未在全部行政区注册。