

Cell-free DNA 提取试剂盒（磁珠法）说明书

说明书版本：1.0

【产品名称】

中文名称：Cell-free DNA 提取试剂盒

英文名称：Cell-free DNA Extraction Kit

【包装规格】

产品名称	货号	规格
Cell-free DNA Extraction Kit	SN406-M10	10 T/盒
Cell-free DNA Extraction Kit	SN406-M48	48 T/盒
Cell-free DNA Extraction Kit	SN406-M96	96 T/盒

【预期用途】

用于血浆/血清中游离 DNA 的提取、富集和纯化。

【检验原理】

Cell-free DNA 提取试剂盒采用可特异性结合 DNA 的超顺磁性磁珠和独特的缓冲液系统，适用于从体积为 300 μ L-10 mL 的血浆/血清样本中提取得到高质量游离核酸分子。本试剂盒针对低分子量核酸进行了定向优化，具有提取效率高、核酸纯度高、重复性强等优点。整个操作过程简单且快速，得到的 cfDNA 可直接用于定量 PCR 和二代测序文库构建等后续实验。本试剂盒亦可供自动化核酸提取仪使用，简单、快速地进行大规模提取，显著降低操作者的工作量和人为误差。

【主要成分】

表 1 试剂盒主要成分及规格

试剂组分名称	规格与数量(10T/盒)	规格与数量(48T/盒)	规格与数量(96T/盒)
Buffer SFB	100 mL/瓶×1 瓶	480 mL/瓶×1 瓶	960 mL/瓶×1 瓶
Buffer SFW1	10 mL/瓶×1 瓶	48 mL/瓶×1 瓶	96 mL/瓶×1 瓶
Buffer SFW2	20 mL/瓶×1 瓶	96 mL/瓶×1 瓶	192 mL/瓶×1 瓶
Buffer SE	5 mL/瓶×1 瓶	24 mL/瓶×1 瓶	48 mL/瓶×1 瓶
蛋白酶 K (Proteinase K)	2 mL/支×1 支	10 mL/瓶×1 瓶	20 mL/瓶×1 瓶
SN100 (磁珠)	2.5 mL/支×1 支	12 mL/瓶×1 瓶	24 mL/瓶×1 瓶

【储存条件及有效期】

本试剂盒中不同试剂组分存储条件不同，请按表 2 所示分别储存。

表 2 试剂储存条件及有效期

试剂组分名称	存储条件	有效期
蛋白酶 K	2-8°C	12 个月
SN100 (磁珠)	2-8°C	12 个月
其他试剂	15-30°C 干燥环境	12 个月

注意：

1. 蛋白酶 K (货号：SN105) 可 2-30°C 运输，请在收货后置于 2-8°C 储存；
2. 若溶液有沉淀析出，为正常现象，不影响试剂性能，使用前请将该溶液置于 37°C 水浴中预热 10 分钟，待沉淀溶解，摇匀后使用。

【自备材料】

1. 300-500 μ L 样本需准备 1.5/2.0 mL 离心管，及对应的 1.5/2.0 mL 磁力架；
2. 500 μ L-5 mL 样本需准备 1.5/2.0 mL 和 15 mL 离心管，1.5/2.0 mL 和 15 mL 磁力架；
3. 5-10 mL 样本需要准备 1.5/2.0 mL 和 50 mL 离心管，1.5/2.0 mL 和 50 mL 磁力架。

【适用范围】

300 μ L-10 mL 的血浆/血清样本。

【操作步骤】

表 3 针对不同起始量样本，请按下表体积添加各组分

组分	样本体积				
	200 μ L	500 μ L	2.0 mL	4.0 mL	8.0 mL
蛋白酶 K	10 μ L	25 μ L	100 μ L	200 μ L	400 μ L
SN100	20 μ L	50 μ L	200 μ L	240 μ L	500 μ L
Buffer SFB	500 μ L	1300 μ L	5.0 mL	10.0 mL	20.0 mL
Buffer SFW1	500 μ L	500 μ L	1.0 mL	1.0 mL	1.5 mL
Buffer SFW2	500 μ L	500 μ L	1.0 mL	1.0 mL	1.5 mL
Buffer SE	50 μ L	50 μ L	100 μ L	200 μ L	500 μ L
离心管	1.5/2.0 mL	1.5/2.0 mL	15 mL	15 mL	50 mL

1. 基于样本起始体积，按照倍数关系换算，以确定组分 SN100，蛋白酶 K，Buffer SFB 应加入的体积；
2. Buffer SFW1，Buffer SFW2 的用量标准：300-500 μ L 样本，使用 500 μ L；500 μ L - 5 mL 样本，使用 1.0 mL；5-10 mL 样本，使用 1.5 mL。

【实验流程】

以 4.0 mL 血清/血浆样本体积为例(其它体积样本起始量, 请参考表 3)。

1. 在 15 mL 离心管中加入 4.0 mL 血浆/血清样品, 接着加入 200 μ L 蛋白酶 K、10 mL Buffer SFB 和 240 μ L SN100, 振荡混匀 5 秒后室温孵育 5 分钟, 期间轻柔颠倒混匀 2-3 次。

▲为避免实验误差, SN100 务必混合均匀后再加入。

2. 将离心管置于磁力架上, 静置 2-5 分钟, 待溶液澄清之后, 保持磁珠吸附状态, 小心移除上清。

3. 将上述样品取下磁力架, 加入 1.0 mL Buffer SFW1, 用移液枪吹散磁珠并吸打混匀, 将重悬后的 SN100 转移至新的 1.5/2.0 mL 离心管中并置于磁力架上, 静置 2-5 分钟, 待溶液澄清之后, 小心移除上清。

▲后续步骤可在 1.5/2.0 mL 离心管中完成。如果离心管壁上有残留磁珠, 则加入 100 μ L Buffer SFW1 漂洗, 然后一并转移到离心管中。

4. 将上述样品从磁力架取下, 加入 1.0 mL Buffer SFW2, 涡旋混匀 5 秒, 将离心管置于磁力架, 静置 2-5 分钟, 待溶液澄清之后, 小心移除上清。

5. 重复第 4 步一次, 小心吸尽上清。

6. 开盖室温晾置约 5 分钟至管内无液体残留, 磁珠表面无反光。

▲磁珠开盖晾干, 避免乙醇残留(否则会影响提取效率); 避免磁珠过分干燥(龟裂), 以免影响最终产量。

7. 将上述样品取下磁力架, 加入 200 μ L Buffer SE, 用移液枪吹散磁珠并混匀, 65 $^{\circ}$ C 静置孵育 3 分钟后将样品重新置于磁力架上, 静置 2-3 分钟, 吸取上清至新的离心管中。

▲洗脱体积可根据实验需求进行调整。

▲洗脱产物可直接进行下一步实验或置于-20 $^{\circ}$ C 保存。

【DNA 浓度及纯度检测】

得到的基因组 DNA 片段的大小与样品保存时间、操作过程中的剪切力等因素有关。回收得到的 DNA 片段可用琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计检测浓度与纯度。

DNA 应在 OD260 处有显著吸收峰, OD260 值为 1 相当于约 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 双链 DNA 或 40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 单链 DNA。

OD260/280 比值应为 1.7-1.9, 若洗脱时不使用 Buffer SE, 而使用 ddH₂O, 该比值会偏低 (因 pH 值和离子会影响光吸收值), 但并不表示纯度低。

【注意事项】

1. 本产品仅用于科研用途, 而非临床诊断, 使用前请仔细阅读本说明书;
2. 试验前请熟悉和掌握需使用的各种仪器的操作方法和注意事项;
3. 所有试剂从规定的存储环境中取出时, 按照要求使用, 使用前试剂应摇匀, 混匀后使用;
4. 每次加样均应使用移液器;
5. 所有样本及试剂应避免直接接触皮肤和眼睛, 切勿吞咽, 一旦发生类似情况请立即用大量清水冲洗并及时到医院就诊;
6. 所有样本和各种废弃物均应按相关法规规定的处理。

【FAQ 手册】

现象	可能原因	解决方案
洗脱核酸 样品浑浊	样品消化不充分	增加蛋白酶 K 工作液用量或者延长 Proteinase K 工作液消化时间
DNA 纯度 低于预期	杂蛋白残留	蛋白酶 K 活性下降, 应当更换。
	盐离子残留	延长 Buffer SPW1 和 Buffer SPW2 涡旋时间, 使得充分洗涤
	异丙醇残留	室温晾干磁珠, 彻底去除异丙醇
	磁珠结块严重	磁珠使用前充分混匀
DNA 产量 低于预期	蛋白酶 K 活性降低	勿将蛋白酶 K 与 Buffer SFB 预先混合
	样品 DNA 含量低	使用保存时间短的样品或者新鲜样品进行提取

【企业信息】

企业名称: 深圳思凝一云科技有限公司
 生产地址: 广东省深圳市宝安区新安街道留仙大道 2 号汇聚创新园 1 栋 508
 客服电话: 0755-23205183
 技术支持: info@shiningbiotek.com
 网 址: https://www.siningene.cn

