

伯优®血清/血浆cfDNA提取试剂盒

产品货号:72202-50

Ver 26.05

【产品介绍】

本产品基于磁珠纯化技术,适用于从250uL-4mL血清、血浆等体液样本中提取游离DNA,具有提取效率高、核酸纯度高等优点。得到的cfDNA可直接用于定量PCR、ddPCR及二代测序文库构建等常规实验。

【产品组分】

72202-50 (50 rxn)	产品组分	组分货号	规格	数量
Box1 (72202-50-01)	蛋白酶K	NC-22-002	11 mL	1
	磁珠H	ND-22-001	2.5 mL	1
Box2 (72202-50-02)	cfDNA裂解液	ND-22-002	80 mL	1
	cfDNA结合液	ND-22-003	100 mL	2
	洗液A	ND-22-004	35 mL	1
	洗液B	ND-22-005	6 mL	1
	洗脱液EB	ND-22-006	4 mL	1

【储存条件】

Box 1: 2 ~ 8°C保存

Box 2: 室温保存

【有效期】

12个月

【注意事项】

1. 磁珠H: 不可冷冻,不可离心,在使用前需涡旋振荡30秒以上使磁珠重悬混匀。
2. 洗液A: 首次使用前按照试剂瓶标签所示,加入15 mL异丙醇并做好标记。
3. 洗液B: 首次使用前按照试剂瓶标签所示,加入24 mL无水乙醇并做好标记。
4. 用于提取的样本应尽量新鲜,避免反复冻融。
5. 对于高油脂样本,建议16,000 g低温离心10分钟以去除油脂,如有必要可重复此步骤一次。水浴消化时间可延长至60分钟。

【实验所需材料(未包含)】

试剂: 异丙醇、无水乙醇

仪器: 水浴锅、低温离心机、磁力架(15 mL、1.5或2 mL)

耗材: 15 mL离心管、1.5 mL低吸附管、1.5 mL无核酸酶离心管



【实验前准备】

1. 确认洗液A中已加入15 mL异丙醇。
2. 确认洗液B中已加入24 mL无水乙醇。
3. 预冷离心机至4°C。
4. 4°C冰箱中融化血浆样本。
5. 针对不同的样本起始量，请按照表格中的体积添加个组分：

组分	250 μ L	500 μ L	1 mL	2 mL	3 mL	4 mL
cfDNA裂解液	188 μ L	375 μ L	750 μ L	1.5 mL	2.25 mL	3 mL
蛋白酶K	25 μ L	50 μ L	100 μ L	200 μ L	300 μ L	400 μ L
cfDNA结合液	500 μ L	1 mL	1.85 mL	3.7 mL	5.6 mL	7.4 mL
磁珠H	5 μ L	10 μ L	20 μ L	40 μ L	60 μ L	80 μ L
洗液A	500 μ L	800 μ L	800 μ L	800 μ L	800 μ L	800 μ L
洗液B	500 μ L	500 μ L	500 μ L	500 μ L	500 μ L	500 μ L
洗脱液EB	25 μ L	25 μ L	25 μ L	50 μ L	75 μ L	100 μ L

【实验流程】

以下实验流程以2 mL血浆为例，其它起始量的样本参照上述表格中的体积添加各组分。

- ① 将血浆样本置于离心机中，4°C 16,000 g离心10 min。
 - ② 取15 mL离心管，加入200 μ L蛋白酶K。
 - ③ 加入2 mL低温离心后的血浆*，振荡混匀。
- *注意吸取过程中尽可能避免吸到上层油脂和底部沉淀，如有必要可重复离心一次。血浆需和蛋白酶K混匀后，再加入裂解液。
- ④ 加入1.5 mL cfDNA裂解液，振荡混匀。放入65°C水浴锅中加热30 min。
 - ⑤ 取出离心管，加入3.7 mL cfDNA结合液，振荡混匀。
 - ⑥ 加入40 μ L磁珠H，振荡混匀。室温孵育10 min。将15 mL离心管置于磁力架上，静置3~5 min，待溶液澄清后，小心移除上清。
 - ⑦ 加入800 μ L洗液A，振荡混匀。将磁珠混合液转至1.5 mL低吸附管中，并做好标记。
 - ⑧ 将低吸附管置于磁力架上，静置3 min，待溶液澄清后，小心移除上清。
 - ⑨ 加入500 μ L洗液B，振荡混匀。将低吸附管置于磁力架上，静置1 min，待溶液澄清后，小心移除上清。
 - ⑩ 加入500 μ L无水乙醇，振荡混匀。将低吸附管置于磁力架上，静置1 min，待溶液澄清后，小心移除上清。
 - ⑪ 瞬时离心，将低吸附管置于磁力架上，小心吸尽上清。
 - ⑫ 将低吸附管开盖10 min，空气干燥磁珠。
 - ⑬ 加入50 μ L洗脱液，振荡混匀。室温静置5 min。
 - ⑭ 将低吸附管置于磁力架上，静置3 min，待溶液澄清后，吸取上清液至新的1.5 mL无核酸酶离心管中。提取的cfDNA可直接用于下游实验，或于-20°C保存一个月。如需长期保存，存放于-80°C冰箱中，注意避免反复冻融以防cfDNA降解。

