

# 伯优®血清/血浆cfDNA提取试剂盒说明书

产品货号:72202-50

Ver 25.04

## 【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<br>(72202-50-01) | 蛋白酶K     | NC-22-002 | 11 mL  | 1  |
|                       | 磁珠H      | ND-22-001 | 2.5 mL | 1  |
| Box2<br>(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 $\mu$ L | 500 $\mu$ L | 1 mL        | 2 mL        | 3 mL        | 4 mL        |
|----------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| cfDNA裂解液 | 188 $\mu$ L | 375 $\mu$ L | 750 $\mu$ L | 1.5 mL      | 2.25 mL     | 3 mL        |
| 蛋白酶K     | 25 $\mu$ L  | 50 $\mu$ L  | 100 $\mu$ L | 200 $\mu$ L | 300 $\mu$ L | 400 $\mu$ L |
| cfDNA结合液 | 500 $\mu$ L | 1 mL        | 1.85 mL     | 3.7 mL      | 5.6 mL      | 7.4 mL      |
| 磁珠H      | 5 $\mu$ L   | 10 $\mu$ L  | 20 $\mu$ L  | 40 $\mu$ L  | 60 $\mu$ L  | 80 $\mu$ L  |
| 洗液A      | 500 $\mu$ L | 800 $\mu$ L | 800 $\mu$ L | 800 $\mu$ L | 800 $\mu$ L | 800 $\mu$ L |
| 洗液B      | 500 $\mu$ L | 500 $\mu$ L | 500 $\mu$ L | 500 $\mu$ L | 500 $\mu$ L | 500 $\mu$ L |
| 洗脱液EB    | 25 $\mu$ L  | 25 $\mu$ L  | 25 $\mu$ L  | 50 $\mu$ L  | 75 $\mu$ L  | 100 $\mu$ 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  $\mu$ 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  $\mu$ 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  $\mu$ 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  $\mu$ 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  $\mu$ 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  $\mu$ 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。

