



*仅用于实验室，不用于诊断和治疗。请随时跟我们索取并使用最新版本的说明书。

环状游离DNA快速提取试剂盒（磁珠法）

别名：ccfDNA提取试剂盒（磁珠法）

目录号：**A-P-1064-025（25次）**
A-P-1064-050（50次）

适用于从血浆和血清中快速的提取游离的DNA，后续非常适合做MS-PCR，实时定量MS-PCR，DNA甲基化定量检测，DNA文库构建以及甲基化微阵列等下游实验分析。

操作手册

请以配套的英文操作手册为准！

在您收到订购的产品时，请确认操作手册是配套的！
同时，有翻译不妥的地方还请各位老师批评指正！

反馈信箱：**tech@aderr.com**

2016年7月，第1版，对应英文第14.12.15版



艾德科技(北京)有限公司
A&D Technology Corporation



目录

操作	- 2 -
试剂盒组成	- 2 -
运输和保存	- 2 -
产品介绍	- 3 -
重要说明	- 3 -
一般产品信息	- 4 -
简述	- 5 -
文献参考:	- 6 -
原理和程序	- 6 -
用法	- 8 -
需要的材料（需单买）	- 8 -
使用步骤	- 8 -
疑难简答	- 12 -
订购信息	- 13 -
相关产品	- 13 -
如何下单	- 15 -



操作

试剂盒组成

内容	Cat no.A-P-1064-025 (25次)	Cat no.A-P-1064-050 (50次)	储存温度
ccfDNA Capture Beads	4ml	8ml	4°C
ccfDNA Capture Enhancer*	0.7ml	1.4 ml	4°C
Capture Buffer	23ml	23mlX2	4°C
Digestion Solution	2ml	4ml	4°C
Proteinase K*	60ul	120ul	4°C
MQ Binding Beads	3ml	6ml	4°C
Elution Buffer	0.6ml	1.2ml	4°C
使用手册	1	1	室温

***注意：**在使用之前，将溶液离心至管底。

运输和保存

该试剂盒分2部分运输：第一部分室温运输；第二部分4°C冰袋运输。试剂盒每个组成部分是足量提供的。使用标准的输入量（每个样本0.5ml）。

当收到时，储存：ccfDNA Capture Beads, ccfDNA Capture Enhancer, Digestion Solution, Proteinase K, MQ Binding Beads和Elution Buffer于4°C。其他组件常温。



产品介绍

重要说明

使用：

环状游离DNA快速提取试剂盒（磁珠法）利用磁珠基于磁珠分离技术来从血浆和血清样本单一和二核小体的混合物中提取环状的游离DNA（ccfDNA）。提取到的ccfDNA可以直接进行实时荧光定量PCR和二代测序（NGS）的DNA文库制备。

起始材料和输入量：

来自各种属的血浆和血清样本。输入量从0.1-1ml。然而，每次样本标准的输入量是：**0.5ml**。ccfDNA的得率取决于血浆或血清中的含量。通常，血浆/血清中含有的约>80%的ccfDNA使用这款试剂盒可以获得。

预防措施：

为了避免交叉污染，以下预防事项对于指导如何使用离心柱是非常必要的：

小心的使用移液器将样本或溶液移入到离心柱中。使用气溶胶屏障的移液器枪头，在使用移液器进行不同样本或溶液的转移时，要及时不停的更换枪头。在将离心柱放入微型离心机之前，始终将离心柱盖子旋紧盖严。在整个实验程序中需要戴手套。且不同样品之间的接触，应立即更换手套。



一般产品信息

质控:

每批环状游离DNA快速提取试剂盒（磁珠法）按照预定技术规范进行检测,以确保稳定的产品质量。我司保证所有产品的性能跟说明书中的描述一致。

质量保证:

此品如果没有达到您的实验期望,可以给我们的技术发送邮件到:tech@aderr.com。如果您有任何意见或新的应用领域及产品性能和技术,我们也鼓励您随时与我们联系。

安全防护:

对于实验人员工作时,实验室应配备安全的外套,一次性手套,和适当的防护眼罩。

产品更新:

我司有权更改或修改任何产品,以提高其性能和设计。这个操作指南的信息是可能随时变更,恕不另行通知。因此,此使用指南仅为提供此品用户时配套使用。

使用限制:

环状游离DNA快速提取试剂盒（磁珠法）是为研究用途,不适合诊断或治疗的应用。

知识产权:

环状游离DNA快速提取试剂盒（磁珠法）中使用的原理和方法,我司有产品专利。



简述

血浆/血清中环状 DNA(ccfDNA)的表观和遗传方面的分析或体液的分析提供了唯一的早期检测大量临床样本比如：癌症、自身免疫疾病、胎儿感染和发挥失调的方法。论证得出，ccfDNA 的临床价值从单个核小体中分离的片段化的 170bps 碱基具有很大意义；作为片段化的 360bps 的核小体碱基拥有相似的功能【1,2】。在细胞凋亡中这种核小体的混合物被释放到血液循环中。并增加尤其在各种各样的病理学情况中；比如：炎症、肺血栓、自身免疫疾病、和癌症【3,4】。同样给展示的使用来自核小体混合物的 ccfDNA 对于遗传和表观的精确分析病理的和生理的状态提供了更好的方法和工具。

目前，这里有几种从血浆和血清中提取ccfDNA的方法。所有的试剂盒都是通过硅胶柱结合或酚氯仿分离来获得DNA。用这种方法获得的DNA既包括ccfDNA又包含非-ccfDNA，这可能会严重影响下游实验的准确分析。为了解决这些问题，我们研发部特别设计了这款：环状游离DNA快速提取试剂盒（磁珠法）来分离ccfDNA。

这个试剂盒具有以下优势和特点：

- **特异性好：**使用创新的磁珠基于片段分选技术，从血浆/血清中有效分离ccfDNA,主要片段大小在170bps。分离得到的DNA可以直接进行qPCR和NGSDNA文库构建实验。
- **操作简便：**快速简单的步骤仅需2小时。无需跑胶，过柱和离心操作。



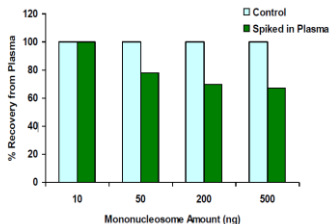
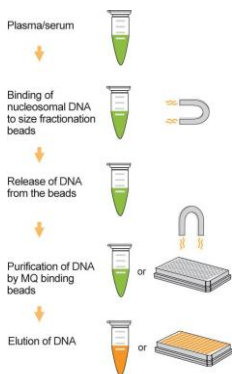
- **高效纯化：**高效移除蛋白、盐分、核酸酶、PCR抑制物质、和另外的杂质比如：多糖、多酚和脂肪。
- **高敏感性：**高效高敏感的DNA回收可以成功的回收大概>80%的单个核小体DNA,即使在起始材料有限的情况下。比如：低至0.1ml。
- **高通量：**手动和也可自动化操作，单管操作或96孔板操作都可扩展。

文献参考：

1. Jahr S et al: Cancer Res, 2001, 61: 1659-1665
2. Suzuki N et al: Clin Chim Acta 2008, 387: 55-58
3. Holdenrieder S et al: Crit Rev Clin Lab Sci. 2009; 46: 1-24
4. Schwarzenbach H et al: Nat Rev Cancer, 2011; 11: 426-437
5. Chan KCA et al: Clinical Chem, 2004, 50: 88-92

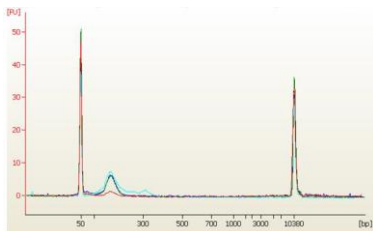
原理和程序

环状游离DNA快速提取试剂盒（磁珠法）包含所有组件，尤其是快速且简单的从血浆/血清中分离小片段的核小体非常理想的。借助片段分选磁珠（ccfDNA Capture Beads）可以高效的捕获单一和双的核小体混合物。同时，我们提供的磁场源（**EpiMag96孔高通量磁力分离器，货号：G-Q10002-1**或类似的）。捕获的核小体DNA然后酶促的释放，通过简单的清洗磁珠使用MQ Binding Beads进行纯化。从磁珠纯化得到的ccfDNA然后可以立即使用或储存。

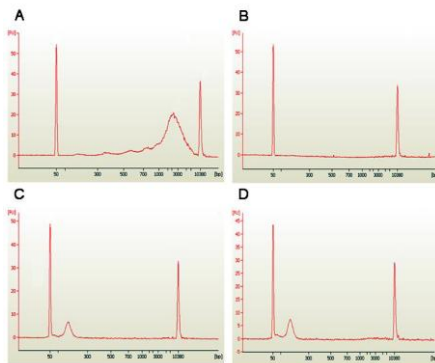


ccfDNA 的高回收率：使用环状游离 DNA 快速提取试剂盒（磁珠法）提取并对 0.5ml 的血浆，用不同数量的 HeLa 单一核小体。提取的 DNA 来自同等数量的核小体标准 DNA 进行荧光定量。

环状游离 DNA 快速提取试剂盒（磁珠法）流程图



由生物分析仪确认的 ccfDNA 高回收率：对 0.5ml 的血浆，用不同数量的 HeLa 单一核小体分离得到：红：200ng；深蓝和绿：500ng；天空蓝：500ng 未纯化 HeLa 单一核小体作为对照。提取的 DNA 片段是：170bps。



高特异性的分选回收小片段的 ccfDNA: 图 A: 500ng 未加的核小体对照(最大 2000bps); 图 B: 500ng 同样已加的 0.5ml 血浆; 图 C: 500ng 单一的核小体已加 0.5ml 血浆; 图 D: 500ng 核小体和 500ng 的单一核小体, 同时按标准加入 0.5ml 血浆。



用法

需要的材料（需单买）

- 涡旋混合仪
- 安捷伦的生物分析仪或类似的方法来评估DNA的大小
- 热循环仪48孔或96孔模块
- 磁力架（适合1.7ml微型离心管，0.2ml PCR管和96孔板）
- 移液器和移液枪头
- **0.2 ml PCR管或PCR板**
- **96微孔板（可选）**
- **90%乙醇**
- **血浆或血清样本**

使用步骤

为得到最好的结果，在实验开始前，请全面仔细地阅读整个操作手册。

起始材料

可以使用各种来源的新鲜和冷冻的血浆/血清。然而，新鲜的血浆/血清通常会比冷冻的DNA得率高。此外，冷冻的血浆/血清每年将会有10%的损失。血浆/血清的输入体积从0.1-1ml，标准的体积是每个样本0.5ml。如果使用血清样本，我们应该在抽取血液后，6小时之内准备血清；外周血淋巴细胞细胞的细胞溶液在准备血清过程中可能人为的引起增加。



针对磁力架用来捕获结合在磁珠上的DNA，我们推荐使用：**EpiMag96孔高通量磁力分离器，货号：G-Q10002-1**，这款产品有着强劲的磁场并且被证明可以高效快速的完成实验。保留好磁力架中磁珠，可以重复使用，与大多数96孔板兼容。这个分离器同样也可以使用1.7ml的微型离心管体积>300ul。

1.ccfDNA捕获

a.添加最大量0.5ml的血浆/血清到1.7ml微型离心管中。紧接着添加24ul 的 ccfDNA Capure Enhancer，850ul 的 Capure Buffer和 150ul 的 ccfDNA Capure Beads(务必在使用之前，彻底的重悬磁珠)。通过移液器吹打至少20次并在室温下孵育8分钟。如果使用的血浆/血清样本量超过1ml，使用额外的管子每管最大0.5ml的血浆/血清。

b.将管子放置在**EpiMag96孔高通量磁力分离器，货号：[G-Q10002-1](#)** 或恰当的磁场平台上45分钟或直至溶液澄清（如果磁力架不适合管子，转移溶液到恰当的容器，这个容器要与磁力架兼容）。小心移走并丢弃上清。（注：小心不要扰乱或丢弃包含DNA的磁珠）

c.当管子在磁力分离器上时，通过添加 2ul 的Proteinase K到50ul的Digestion Solution中制备DNA Release Solution。

d.保持管子放在磁力分离器上并且添加50ul 的DNA Release Solution到每个管子中。重新重悬磁珠。（通过移液器使用50ul的DNA Release Solution上下吹打贴壁在管子上的磁珠，这样就可以）。转移磁珠溶液到一个0.2ml 或 0.5ml 的PCR管子里。60°C 孵育10分钟来释放磁珠上面的DNA。



e.通过放置在 **EpiMag96孔高通量磁力分离器, 货号: G-Q10002-1** 或恰当的磁力分离器放置直至溶液澄清（大概5分钟；如果磁力架不适合管子，转移溶液到适合磁力分离器的管子或板子里面），来捕获磁珠。小心的转移包含DNA的重悬磁珠溶液到一个新的0.2ml 或 0.5ml 的PCR管子里或是U-型底的微孔板里（注：不要丢弃上清，丢弃磁珠）。

2.ccfDNA纯化

a.通过涡旋或震荡来重悬MQ Binding Beads。添加2X(2:1比率)再次重悬的磁珠到DNA样本中（比如：100ul 的MQ Beads到50ul 的DNA溶液中）。通过移液器至少10次的吹打来充分地混合。

b.室温孵育5分钟并容许DNA结合磁珠。

c. 把管子/板子放置在 **EpiMag96孔高通量磁力分离器, 货号: G-Q10002-1** 或恰当的磁力分离器，直至溶液澄清（大概5分钟；如果磁力架不适合管子/板子，转移溶液到适合磁力分离器的管子或板子里面）。小心的转移并丢弃上清。包含DNA的重悬磁珠溶液到一个新的0.2ml 或 0.5ml 的PCR管子里或是U-型底的微孔板里（注：不要扰乱和丢弃包含DNA的磁珠）。

注：如果 **EpiMag96孔高通量磁力分离器, 货号: G-Q10002-1** 是使用0.2或0.5ml的管子，应该使用适配器。请参考：

EpiMag96孔高通量磁力分离器, 货号: G-Q10002-1使用说明书。



d.添加200ul 的 90%的乙醇溶液到每个管子/板子并重新重悬磁珠。放置管子/板子在磁力分离器上1分钟或直至溶液澄清。移走并丢弃上清。

e.重复步骤**d**一次总计2次清洗。在最后一步清洗之后，务必保证乙醇完全的晾干。

f.当管子在磁力分离器上时，室温**3-4**分钟风干磁珠。确保乙醇的痕迹全部移走这一步是非常重要的。

注：小心不要过度风干磁珠成为斑点状（过度风干的磁珠呈现破裂状）因为这样会显著的降低洗脱的效率。

g.将磁珠放在 20ul Elution Buffer，并且室温孵育4分钟来释放磁珠上面的DNA。

h.通过放置管子/板子在磁力分离器上2分钟来捕获磁珠或直至溶液澄清。

注：正常情况下洗脱下来的溶液可能会轻微的发黄。

i.转移上清到一个新的0.2ml的PCR管子或PCR板子里并且使用荧光的方法来测量DNA的数量（比如：使用FitAmp通用DNA定量试剂盒，货号：A-P-1020或Picogreen分析法）。如有必要，提取的DNA片段化后使用安捷伦的生物分析仪或类似的方法来测定。

j.纯化的ccfDNA现在等待下游实验可以使用或-20°C后继续使用。



疑难简答

问题	可能的原因	建议
提取的DNA低得率	起始材料不足	针对ccfDNA提取来增加血浆/血清的体积。
	样本中ccfDNA低浓度。	样本室温下滞留时间太长或样本本身含有的ccfDNA量太低。增加再次提取的样本量。
	不恰当的储存试剂盒。	确保试剂盒没有过期。标准的储存日期是从购买之日起6-12个月。
	在ccfDNA捕获的第d步ccfDNA捕获磁珠没有重新重悬。	完全的重选磁珠容许最大程度的释放DNA。
	在纯化过程中MQ Beads与DNA体积的比例不恰当。	检查第2a步中，MQ Binding Beads添加到DNA溶液中的体积是否正确。恰当的比率应该是捕获的片段>100bps。
	因血管中不恰当的储存导致DNA降解。	使用EDTA中的新血液来分离血浆/血清。



	样本承受了多次的反复冻融循环。	反复冻融导致DNA降解。总是使用新鲜的样本或是样本仅解冻过一次。
	在纯化的步骤中使用低百分比的乙醇。	应该使用新鲜制备的90%乙醇。
存在大片段 (>5000bps) 与预期不符	在血浆/血清分离过程中，外周血的淋巴细胞细胞溶液分离。	在抽取血液之后尽快将血清制备好。并且分离时间尽量短-不要超过6小时。

订购信息

货号#	描述	规格
A-P-1064-025	环状游离DNA快速提取试剂盒（磁珠法）	25次
A-P-1064-050		50次

相关产品

DNA样本准备	
A-P-1003	常规组织切片DNA提取试剂盒
A-P-1004	血浆/血清DNA提取试剂盒---现货
A-P-1006	DNA 浓缩试剂盒



A-P-1007	凝胶DNA提取试剂盒
A-P-1009	石蜡包埋组织切片DNA提取试剂盒
A-P-1017	尿液 DNA 提取试剂盒
A-P-1018	血液和培养细胞 DNA 抽提试剂盒
DNA亚硫酸氢盐修饰	
A-P-1001	DNA修饰试剂盒
A-P-1002	双链 DNA提取&修饰试剂盒
A-P-1008	96孔DNA修饰试剂盒
A-P-1016	全细胞亚硫酸氢盐修饰试剂盒
A-P-1026	DNA 甲基化极速修饰试剂盒
A-P-1050	96 孔 DNA 甲基化极速修饰试剂盒(磁珠法)
DNA甲基化/羟甲基化定量检测试剂盒	
A-P-1030	DNA甲基化极易定量检测试剂盒（比色法）
A-P-1034	DNA甲基化定量检测试剂盒（比色法）
A-P-1035	DNA甲基化定量检测试剂盒（荧光法）
A-P-1032	DNA羟甲基化极易定量检测试剂盒（比色法）
A-P-1036	DNA羟甲基化定量检测试剂盒（比色法）
A-P-1037	DNA羟甲基化定量检测试剂盒（荧光法）
A-E3317S	EpiMark 5-hmC和5-mC 分析试剂盒---热销
A-P-1011	通用甲基化DNA修饰试剂盒
A-P-1019	通用甲基化DNA配备试剂盒
A-P-1028	快速 MS-qPCR 试剂盒



如何下单

1. 电话，传真或邮件订购:

电话：010—52406250； 传真：010—52406250；

邮件：ordering@aderr.com

2. 在线定单订购:

<http://www.aderr.com/cn/main.php?m=1771&t=1474>

推荐阅读

1. “新四大碱基”的确定，对于生物学研究者的几点启示！

<http://www.aderr.com/cn/main.php?m=2566&t=3623&id=21290>

2. 科学家发现新型 DNA-microDNA！

<http://www.aderr.com/cn/main.php?m=1349&t=3606&id=20763>

3. 艾德科技为您提供“一站式”的产品与服务！

<http://www.aderr.com/cn/main.php?m=1349&t=3606&id=20739>

4. 艾德科技教你如何在线设计甲基化的引物！

<http://www.aderr.com/cn/main.php?m=2566&t=3623&id=24445>

5. RNA 甲基化修饰和定量？惊呆了我和小伙伴们！！！！

<http://www.aderr.com/cn/main.php?m=1349&t=3606&id=30829>

6. 组蛋白甲基化和去甲基化神器在手，小伙伴们发文章马上飞起来！

<http://www.aderr.com/cn/main.php?m=1349&t=3606&id=32209>



7. ChIP 来袭，最后一波!!! 赶快购! 购!!! 购!!! (染色质免疫沉淀，组蛋白甲基化，组蛋白乙酰化)!

<http://www.aderr.com/cn/main.php?m=1349&t=3606&id=37826>

8. 【表观遗传-m6A 深度研究】绝招在身，走遍天下! 掌握表观遗传学前沿产品研究工具!

<http://www.aderr.com/cn/main.php?m=1349&t=3606&id=49286>

9. 【表观遗传-RNA 甲基化】萌货! 奔跑吧!! RNA 甲基化时代来了!!!

<http://www.aderr.com/cn/main.php?m=1349&t=3606&id=4985>



公众号: AD-Bio



订阅号: Bio-888



艾德科技（北京）有限公司
一站式采购 www.aderr.com 实验室好伙伴



艾德科技（北京）有限公司 A&D Technology Corporation

地 址：北京昌平区中关村生命科学园东 60 米（102206）

电 话：010-52406250 传 真：010-52406250

网 址：www.aderr.com 电 邮：tech@aderr.com