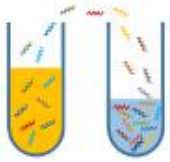
润基生物
RENGEN BIOSCIENCES



产品使用说明书

血清/血浆 DNA 分离试剂盒

Serum/Plasma DNA Isolation Kit

Cat# SPDNA50A-1
SPDNA30A-1

辽宁润基生物科技有限公司

Liaoning Rengen Biosciences Co.,Ltd

Version 1.0

01/6/2018

目 录

保存和应用 2

产品介绍 3

试剂盒组成和说明 4

注意事项..... 3

操作方法 5

相关产品信息..... 7

常见问题..... 7

技术支持 8

保存与应用

【保存条件】

本试剂盒低温下运输，室温或 2-8℃下保存至少一年（**按照试剂盒不同成分分别保存**），使用前请详细阅读说明书。

【应用范围】

本产品只用于科学研究，不能用于临床诊断。

产品介绍

近年来，液体活检作为一种新的非侵入式主要检测血液中循环肿瘤细胞（Circulating Tumor Cell，CTC）和循环肿瘤 DNA（Circulating Tumor DNA，ctDNA），获取患者肿瘤病变信息，用以帮助诊断治疗。

血清或血浆中游离核酸（Free-circulating nucleic acids）通常是小片段（DNA<1000 bp 或 RNA<1000 nt），游离 miRNAs 可潜在作为疾病（如肿瘤）标志物，用于临床诊断及用药指导和病情评估。血清或血浆中游离核酸浓度通常较低，并且不同个体不同状态下含量不同。另外，在血清或血浆中含有大量的细胞分泌的胞外膜性囊泡（Extrocellular Visicles，EVs），在细胞间信息交流中发挥着重要作用，主要参与免疫抗原呈递，神经递质传递，脂类代谢及细胞信号转导等过程，并与多种疾病的发生、发展、治疗及预后密切相关。在外泌体中已检测到基因组 DNA 和线粒体 DNA （Thakur BK et al.2014； Akiko Takahashi,et al.2017； Kalhert et al.2014），可作为目前液体活检的补充，正被人们所认识和重视。

血清/血浆 DNA 分离试剂盒（Serum/Plasma DNA Isolation Kit）采用优化的裂解液提取血清/血浆中 DNA，通过特异性结合核酸的离心吸附柱和独特的缓冲液系统，可方便、快捷地纯化、洗脱 DNA，可直接用于下游应用，如 realtime PCR，基因突变检测，NGS 测序等。

参考文献

Thakur BK,et al. Double-stranded DNA in exosomes:a novel biomarker in cancer detection. Cell Research (2014)24:766-769.

Akiko Takahashi,et al. Exosomes maintain cellular homeostasis by excreting harmful DNA from cells. Nature Communications(2017)8:15287.

Christoph Kahlert,et al. Identification of double-stranded genomic DNA spanning all chromosomes with mutated KRAS and p53 DNA in the serum exosomes of patients with pancreatic cancer. J Biol Chem.(2014)289(7):3869-3875.

试剂盒组成和说明

产品组成 Cat# SPDNA50A-1	含量	保存温度
裂解液 D（Lysis Buffer D）	15ml	2-8℃
洗涤液 A（Wash Solution A）*	15ml×2	RT
洗脱液 A（Elution Solution A）	10ml	RT
蛋白酶 K（20mg/ml）	1.0ml	RT
吸附柱（Spin columns）/收集管（Collection Tubes 2.0 ml）	50 套	RT
1.5 ml 离心管（Centrifuge Tubes 1.5 ml）	50 个	RT
产品组成 Cat# SPDNA30A-1	**含量**	**保存温度**
裂解液 D（Lysis Buffer D）	7ml	2-8℃
洗涤液 A（Wash Solution A）*	15ml	RT
洗脱液 A（Elution Solution A）	10ml	RT
蛋白酶 K（20mg/ml）	0.5ml	RT
吸附柱（Spin columns）/收集管（Collection Tubes 2.0 ml）	30 套	RT
1.5 ml 离心管（Centrifuge Tubes 1.5 ml）	30 个	RT

***使用前先在每瓶洗涤液 A (Wash Solution A)中加入 35ml 无水乙醇，混匀，并在瓶标签上标记“√”，每次使用后立即盖紧瓶盖。**

【注意事项】

1. 除了裂解液 D (Lysis Buffer D)保存在 2-8℃外，其余试剂盒和耗材保存在室温下(15-25ºC)，自购买之日起有效期至少 1 年。裂解液 D 在使用前检查是否有盐沉淀，建议在使用前 37℃水浴 10 分钟，混合均匀，无沉淀，溶液清澈。
2. 所有的样品使用前请平衡到室温(15-25℃)。
3. **第一次使用试剂盒时，请按照试剂瓶上的提示在洗涤液 A 中添加无水乙**醇。

操作说明

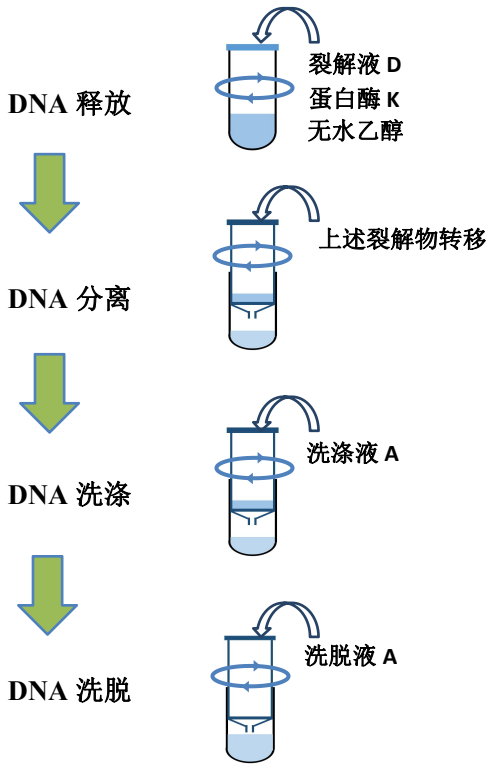


图 1　简单操作流程图

1. DNA 释放

取 200µl 血清或血浆样品，3,000×g，4℃离心 15min，去除细胞或细胞碎片，离心后将上清吸入新管中，加入等体积（200µl）的裂解液 D，涡旋振荡 15sec，室温放置 5min。加入 10µl 蛋白酶 K 溶液，混匀，56℃孵育 10min，恢复室温。加入 400µl 预冷的无水乙醇，充分颠倒混匀，此时可产生白色沉淀。

2. DNA 分离

分两次将上一步所得溶液和沉淀都加入一个吸附柱中（吸附柱放入收集管中），14,000×g 离心 30sec，倒掉收集管中的废液，将吸附柱放入收集管中。

3. DNA 洗涤

向吸附柱加入 500µl 洗涤液 A，14,000×g 离心 30sec，倒掉收集管中的废液，将吸附柱放入收集管中。重复洗涤 1 次，14,000×g 离心 2min，倒掉废液，将吸附柱置于室温放置数分钟，以彻底晾干吸附材料中残余的漂洗液。

注意：这一步的目的是将吸附柱中的残余的洗涤液去除，洗涤液中的乙醇的残留会影响后续的酶反应（酶切、PCR 等）实验。

4. DNA 洗脱

将吸附柱转入 1.5 ml 离心管中（试剂盒提供），向吸附柱中间位置悬空滴加 50-200μl 洗脱液 A，室温放置 2-5min，14,000×g 离心 2min，将溶液收集到离心管中。

注意：洗脱液体积不应小于 50μl，体积过小会影响回收效率，为增加 DNA 的得率，可将离心得到的溶液再加入吸附柱中，室温放置 2min，14,000×g 离心 2min。

相关产品信息

相关产品	目录号
血清/血浆 RNA 分离试剂盒	SPRNA50A-1/ SPRNA30A-1
血清/血浆 miRNA 分离试剂盒	SPmiR50A-1/SPmiR30A-1

常见问题

Q1：提取血清或血浆 DNA 时，需要在什么温度下离心？

A1：所有离心步骤须在室温下操作，在 4℃时离心会降低 DNA 的产量。

Q2：提取的 DNA 下游应用时，如 PCR 不是很好？

A2：洗脱的 DNA 中含有乙醇和/或有较多盐离子污染，会抑制 PCR 反应。所以，在最后洗涤时，将吸附柱置于室温放置数分钟，以彻底晾干吸附材料中残余的洗涤液。

技术支持

关于查看详细产品信息和下载相关资料请登陆：**http://www.rengenbio.com**

同时可通过电话或 Email 接触技术支持。

公司：辽宁润基生物科技有限公司

地址：辽宁省沈阳市经济技术开发区十三号路 77 号联东 U 谷 20 号楼

邮编：110027

电话：024-31086590

传真：024-31086589

邮箱：公司信息 info@rengenbio.com

技术支持 support@rengenbio.com

产品订购 order@rengenbio.com