

## 循环核酸提取方案——血清血浆(0.1-5ml)

### 背景介绍

循环核酸 (circulating nucleic acid)，也称游离 DNA，是指循环血中游离于细胞外的部分降解了的机体内源性 DNA，单体的大小为 170 bp 左右，其同时存在单体、二聚体以及三聚体等多种模式。循环核酸是重要的临床分子标志物，与肿瘤、妊娠相关性疾病、自身免疫病等密切相关，其检测在疾病早期诊断、分期、治疗监测、预后判断以及产前基因诊断等许多方面有着广泛应用。

TIANGEN 目前拥有一系列血浆、血清样本的循环核酸提取方案，可从 0.1-5ml 血清和血浆样本中分离纯化高质量游离 DNA，应用于 qPCR，芯片，二代测序等下游实验。

### 样本类型

0.1-5 ml 血清/血浆

### 样本特点

循环核酸在血清/血浆等体液中的含量很低，在肿瘤等疾病分析中样品珍贵，对提取得率要求很高。

血液保存管一般含有稳定剂，循环核酸较难裂解释放到溶液中，因此对裂解液的裂解能力要求非常高。

### 样本保存

用于提取循环核酸的血清、血浆样本，应使用可以稳定样本中白细胞的血液保存管进行储存，尽可能减少在保存过程中因白细胞破裂释放基因组 DNA，干扰循环核酸提取及下游检测实结果。

### 注意事项

1. 样品应避免反复冻融，否则会导致提取的核酸片段较小且提取量降低。
2. Carrier RNA 是一种核酸捕获物，当样本中核酸含量较低时，使用 Carrier RNA 可以提高游离核酸提取效率。
3. 提取所得核酸产物在进行下游 2100 芯片检测等精密实验前，建议将核酸产物高速离心 1-2min，避免吸到微小杂质，影响检测结果。

## 方案介绍

TIANGEN 根据血清、血浆样本的特点，推出了一系列核酸提取试剂盒，可实现高效分离纯化高质量、高得率循环核酸。

方案分类	产品名称及文献	产品特点	适用客户类型
柱法方案	<a href="#">微量样品基因组 DNA 提取试剂盒 (DP316)</a>	适用从 100-200μl 血清/血浆小体积样本中提取高纯度游离 DNA。	样本数量较少，便于手工操作。适合有多种微量提取需求。
	<a href="#">血清/血浆游离 DNA 提取试剂盒(离心柱型)(DP339)</a>	适用从 100-200μl 血清/血浆小体积样本中提取高纯度游离 DNA。	样本数量较少，便于手工操作。
磁珠法方案	<a href="#">磁珠法血清/血浆游离 DNA 提取试剂盒 (DP709)</a>	适用从 200-400μl 血清/血浆小体积样本中提取高纯度游离 DNA。	样本数量较少，便于手工操作，需配备 <a href="#">磁力架 (OSE-MF-01, TIANGEN)</a> 。可整合不同平台仪器。
	<a href="#">磁珠法大体积游离核酸提取试剂盒 (DP710)</a>	适用从 0.5-5ml 血清/血浆大体积样本中提取高纯度游离 DNA。	
TGuide S32 配套方案	<a href="#">磁珠法血清/血浆游离 DNA 提取试剂盒 (DP709)</a>	可整合 <a href="#">TGuide S32 全自动核酸提取纯化仪 (YOSE-S32, TIANGEN)</a> 的磁珠法试剂盒，一键启动，30min 即可实现 32 个 200-400μl 样本的自动化核酸提取。预分装试剂为 DP609-T2。	样本体积小(如产前诊断)，样本数量多，有自动化提取需求，对实验结果均一化要求高，或人力紧缺的客户。
TGuide S96 配套方案		可整合 <a href="#">TGuide S96 全自动核酸提取纯化仪 (YOSE-S96, TIANGEN)</a> 的磁珠法试剂盒，一键启动，50min 即可实现 96 个 600μl 样本的自动化核酸提取。预分装试剂为 DP609-T1。	
TGuide S24 配套方案	<a href="#">磁珠法大体积游离核酸提取试剂盒 (DP710)</a>	整合 <a href="#">TGuide S24 全自动核酸提取纯化仪 (YOSE-S24, TIANGEN)</a> 的磁珠法试剂盒，50min 即可实现 1-5 ml 样本的自动化核酸提取。	样本体积大(如肿瘤疾病诊断)，样本数量多，有自动化提取需求，对实验结果均一化要求高，或人力紧缺的客户。

注：[红色](#)标出的 TIANGEN 产品可点击，直接了解产品相关信息

## 方案实验结果展示

### 柱法和磁珠法方案对比结果展示

#### 400 μl 产筛用冻存血浆

提取方法: 微量样品基因组DNA提取试剂盒 (DP316)

磁珠法大体积游离核酸提取试剂盒 (DP709)

下游应用: 二代测序、RT-qPCR

结果展示: 本实验结果由 **天根生化科技(北京)有限公司** 提供

方案分类	产品名称	CT值	提取测值Qubit (ng/ul)	High Sensitivity DNA Chip分析
柱法方案	DP316 (加1ul Carrier RNA)	33.22	0.163	8.712
磁珠法方案	DP709	31.55	0.068	8.208

实验方法: 使用产筛用冻存血浆 (STRECK管) 提取游离DNA, 上样体积400 μl。

提取结果各取4 μl用Qubit dsDNA HS Assay Kit测浓度, 用beta-globin引物进行定量PCR, 用Enzymatics文库构建试剂盒构建文库和用Agilent 2100分析。

结果评价: 检测结果显示, 柱法提取方案与磁珠法提取方案所得循环核酸, 均能在下游实验中有良好的表现, 其中柱法在Qubit测值及建库结果上表现较好, 磁珠法则在RT-qPCR实验中有较提前的CT值。TIANGEN目前拥有适合不同体积血浆样本的循环核酸提取方案, 可提供高品质循环核酸进行下游各类研究。

## 磁珠法方案结果展示

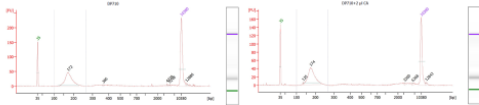
#### 1ml 产筛用冻存血浆

提取方法: 磁珠法大体积游离核酸提取试剂盒 (DP710)

拼插式磁力架(1.5 ml & 15 ml) (OSE-MF-01)

下游应用: 二代测序、RT-qPCR

结果展示: 本实验结果由 **天根生化科技(北京)有限公司** 提供



产品名称	提取测值Qubit (ng/ul)	总得率 (ng)	2100峰值 (pg/ul)	170 bp片段得率 (ng)
DP710	0.349	22.69	200.86	13.056
DP710 (加1 μl Carrier RNA)	0.660	42.90	283.18	18.407

实验方法: 使用产筛用冻存血浆 (STRECK管) 提取游离DNA, 上样体积1 ml, 洗脱体积65 μl, 提取结果各取2 μl用Qubit dsDNA HS Assay Kit测浓度和取1 μl用Agilent 2100芯片分析。

结果评价: 检测结果显示, 本试剂盒可以有效提取大体积循环核酸, 1 ml血浆样本的提取得率可以达到20 ng以上, 增加Carrier RNA (CA) 的方案也能进一步提高提取得率。TIANGEN目前拥有适合大体积血浆样本的循环核酸提取方案, 为肿瘤样本等珍稀样本的检测提供更高的得率, 保证下游各类研究的进行。

## TGuide S24 配套方案结果展示

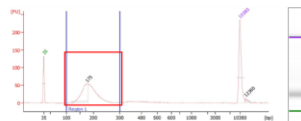
#### 2 ml 产筛用冻存血浆

提取方法: 磁珠法大体积游离核酸提取试剂盒 (DP710)

TGuide S24全自动核酸提取纯化仪 (YOSE-S24)

下游应用: 二代测序、RT-qPCR

结果展示: 本实验结果由 **天根生化科技(北京)有限公司** 提供



Peak Label	Peak	Size [bp]	Conc. [pg/ul]	Molarity [pmol/l]	Observations
1	4	175	120.00	5.4112	Lower Marker
2	9	175	270.00	11.8224	Upper Marker
3	15	175	450.00	19.7040	
4	21	175	630.00	27.5856	

实验方法: 使用产筛用冻存血浆 (STRECK管) 提取游离DNA, 上样体积2 ml, 洗脱体积60 μl, Agilent 2100 Bioanalyzer检测结果为上样1 μl ctDNA。

结果评价: Agilent 2100 Bioanalyzer检测结果显示, 血浆提取所得循环核酸峰值集中在175 bp左右, 峰面积为370 pg/ul, 得率在20 ng以上。TIANGEN目前拥有适合不同体积血浆样本的循环核酸提取方案, 可提供高品质循环核酸进行下游各类研究。