

Sera-Xtracta™ Cell-free DNA Kit

血浆中游离 DNA 的高效提取和纯化

Sera-Xtracta™ Cell-free DNA Kit (图 1) 用于从血浆中快速提取和纯化游离 DNA (cfDNA)。本产品可以分离出高质量的小片段 cfDNA，同时最大程度上减少基因组 DNA 的干扰。该试剂盒可与常用的血液采集管兼容且性能稳定，为了获得最佳的提取效果，推荐使用 Streck™ BCT DNA 采集管。同时，可以在 2 小时内分离出高质量的 cfDNA，并且与下游各种应用兼容，如 PCR，ddPCR，基因分型和下一代测序 (NGS) 等。

随着核酸提取广泛应用于临床，研究者们越来越多地专注于如何快速便捷地提取核酸，以及如何运用自动化平台来提高核酸纯化的通量，同时保证结果的稳定性和可靠性。Sera-Xtracta™ Cell-free DNA Kit 促进了从基于离心柱纯化向磁珠法纯化的转变，为高灵敏度的检测和下游应用提供高质量的核酸。



图 1. Sera-Xtracta™ Cell-free DNA Kit 包含蛋白酶 K (冻干粉)，20% SDS，二氧化硅磁珠悬浮液，2 种结合液，2 种洗涤液和 cfDNA 洗脱液，基于 2.0mL 血浆体积可进行 96 次纯化反应。

人血浆的典型结果

使用 Streck™ BCT 管采集健康人全血并制备血浆。取 2mL 血浆进行 cfDNA 的分离，然后用 30μL 洗脱液进行洗脱。在 Agilent™ 2100 Bioanalyzer 上使用高灵敏度 DNA 芯片对 cfDNA 的产量和片段分布进行分析 (图 2)。

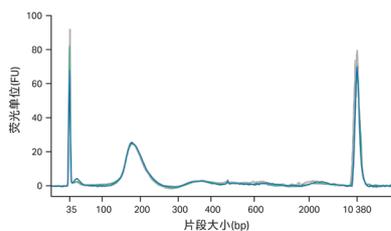


图 2. Bioanalyzer 分析显示从健康人群中回收的 cfDNA 的典型图谱，数据基于 3 次独立重复实验 (蓝色，绿色和灰色)。使用 Sera-Xtracta™ Cell-free DNA Kit 对 2mL 血浆 (使用 Streck™ BCT 采集管) 进行 cfDNA 分离，取 1μL 样品在 Agilent™ 2100 Bioanalyzer 系统上使用高灵敏度 DNA 芯片进行分析。

DNA 回收与片段分布

Sera-Xtracta™ Cell-free DNA Kit 可以最大限度地回收小片段的 cfDNA。据报道，这些片段存在于晚期癌症患者的血浆中，并携带了肿瘤的 DNA 信息。同时该试剂盒大大减少了白细胞裂解所带来的基因组 DNA 干扰。图 3 和图 4 显示了该试剂盒对 50bp DNA 标准分子量 ladder 各片段的回收效率。

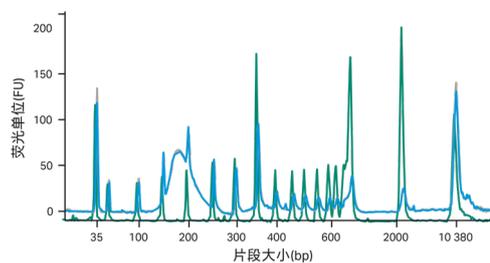


图 3. Bioanalyzer 分析显示从健康人群和 50bp ladder 中回收小片段 DNA 的效率 (数据基于 2 次独立重复实验，分别用灰色和蓝色表示，ladder 用绿色表示)。使用 Streck™ BCT 管采集血液并制备血浆 (2mL)，加入 50bp ladder (10ng/mL 血浆)，然后用 Sera-Xtracta™ Cell-free DNA Kit 进行纯化，取 1μL 纯化后的样品与 50bp DNA ladder 在高灵敏度 DNA 芯片上运行。

- DNA ladder 显示为绿色的峰图。
- 加入 DNA ladder 的血浆样品中，可以有效回收对应的 cfDNA 片段 (即 100-300bp 之间) 和 ≤100bp ladder 的片段。
- 对 DNA ladder 的回收显示在 2.5kb 处相对回收率较低，表明试剂盒可以最大程度地降低高分子量基因组 DNA 的干扰。

图 4 显示了该试剂盒可以对低分子量的 DNA 进行有效的回收，即 50bp 和 100bp 片段，并且最大程度上降低对于 2.5kb 高分子量的 DNA 的回收效率。

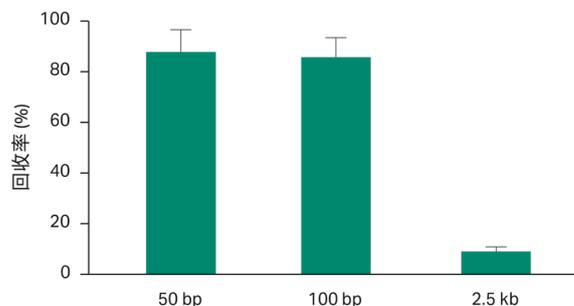


图 4. 数据基于 8 次独立重复实验 (使用 Streck™ BCT 管采集 2 名不同健康者的血液并制备血浆)，加入 DNA ladder 后测定对特定片段的回收率。误差线为标准差。

扩展性

Sera-Xtracta™ Cell-free DNA Kit 适用于多种样品体积。实验证明可以从 0.5-4mL 的血浆样本中有效纯化 cfDNA。为将最终浓度归一化，可根据样本投入量按比例调整洗脱体积 (表 1)。

表 1. 调整的血浆样本的投入量和相应的洗脱体积获得归一化浓度

血浆	0.5 mL	1 mL	2 mL	4 mL
洗脱体积	15 μ L (7.5 μ L)	15 μ L	30 μ L	60 μ L

注：对于 0.5mL 血浆样本，洗脱体积可相应调整至 7.5 μ L，但由于体积低于 15 μ L 可能存在潜在的问题，通常建议使用 15 μ L 的洗脱体积。

纯化后的 cfDNA 在 Agilent™ 2100 Bioanalyzer 上用高灵敏度 DNA 芯片进行分析 (图 5)。

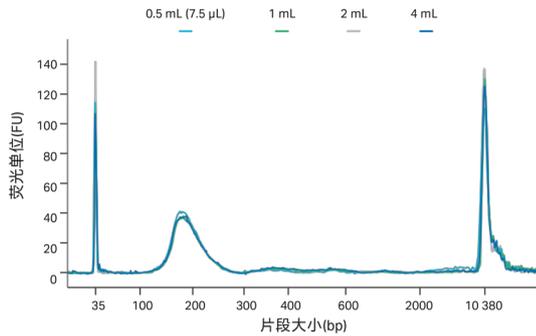


图 5. Bioanalyzer 分析显示在 0.5-4mL 血浆投入量下 cfDNA 的峰图，血浆样本的制备来自于 Streck™ BCT 管采集的血液。DNA ladder 显示为绿色的峰图。

- 不同的血浆投入量下游离 DNA 回收效率保持一致。
- 注：对于 0.5mL 血浆样本，洗脱体积已按比例缩降至 7.5 μ L。但由于体积低于 15 μ L 可能存在潜在的问题，通常建议使用 15 μ L 洗脱体积。

下一代测序 (NGS) 中的功能测试

从 Streck™ BCT 管采集的母体血液中制备血浆，使用 Sera-Xtracta™ Cell-free DNA Kit 和 QIAamp Circulating Nucleic Acid Kit (Qiagen™) 分别从血浆中提取 cfDNA。对 2mL 血浆进行 cfDNA 的分离，并用 30 μ L 洗脱液洗脱，洗脱液由相应的试剂盒提供。取 25 μ L cfDNA 样品制备 NGS 文库并定量，在 Illumina™ NextSeq™ 系统上进行基因组测序，以检测胎儿的染色体非整倍体。

用两种试剂盒提取的 cfDNA 均可用于产前筛查 PrenaTest™ (Eurofins LifeCodexx)，用以检测胎儿 21、18、13、X 和 Y 染色体的非整倍体 (表 2)。

表 2. Sera-Xtracta™ Cell-free DNA Kit 和 QIAamp MinElute™ ccfDNA Kit 在利用 PrenaTest 检测胎儿非整倍体方面性能相似。

试剂盒	采集管	文库平均片段长度	Total reads	Mapped reads	检测到的变体	胎儿分数
QIAamp MinElute™ ccfDNA Kit	Streck™ BCT 采集管	307	23046585	91.16	21-三体	> 4%
Sera-Xtracta™ Cell-free DNA Kit	Streck™ BCT 采集管	303	20580290	91.35	21-三体	> 4%
QIAamp MinElute™ ccfDNA Kit	Streck™ BCT 采集管	308	30789670	90.98	18-三体	> 4%
Sera-Xtracta™ Cell-free DNA Kit	Streck™ BCT 采集管	307	17534425	91.27	18-三体	> 4%
QIAamp MinElute™ ccfDNA Kit	Streck™ BCT 采集管	308	20435487	91.11	二倍体	> 4%
Sera-Xtracta™ Cell-free DNA Kit	Streck™ BCT 采集管	303	28699591	91.32	二倍体	> 4%

手动操作和自动化提取对比

Sera-Xtracta™ Cell-free DNA Kit 已经实现了在 KingFisher™ Duo Prime (Thermo Fisher Scientific) 平台上的自动化运行。并基于手动操作方案开发了在该平台自动化运行的步骤。采用相同的样本和试剂盒分别进行手动和自动化提取 cfDNA，并对分离后 cfDNA 使用 Agilent™ 2100 Bioanalyzer 进行分析 (图 6,7)。

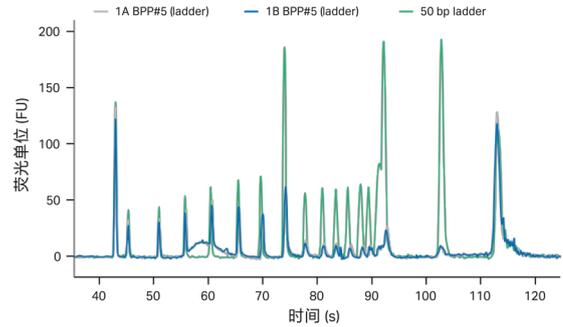


图 6. 取 2mL 血浆 (从 Streck™ BCT 管采集的血液中制备) 在 KingFisher Duo Prime 平台上提取 cfDNA，并在血浆样本中加入 10ng/mL 的 50bp DNA ladder，分离出的 DNA 在 Agilent™ 2100 Bioanalyzer 上进行分析。

- 血浆投入量为 2mL。
- 运行前用洗涤液对洗涤步骤的深孔板 / 条进行预清洗。
- 运行前用洗脱液对洗脱步骤的深孔板 / 条进行预清洗。
- 现配的结合液混合物需要手动加入到裂解后的血浆样本中。
- 其余剩余步骤可自动完成，无需手工操作。

* 可向科学支持部门索取 Kingfisher Duo 平台的自动化运行步骤 (cytivalifesciences.com/en/us/support/contact-us)

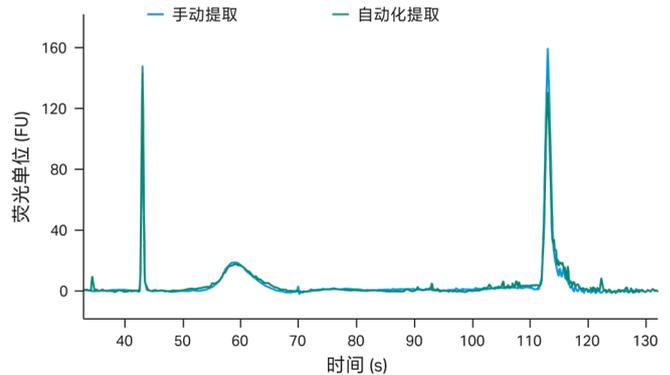


图 7. cfDNA 的手动和自动化提取对比。使用 Sera-Xtracta™ Cell-free DNA Kit 对 2mL 血浆 (从 Streck™ BCT 管采集的血液中制备) 进行 cfDNA 的分离，取 1 μ L 纯化后的样品在 Agilent™ 2100 Bioanalyzer 上使用高灵敏度 DNA 芯片上进行分析。

Sera-Xtracta™ Cell-free DNA Kit, MagMAX™cfDNA Kit 和 QIAamp MinElute™ccfDNA Kit 在利用 qPCR 检测基因突变中的应用对比

从健康人群中采集全血 (Streck™ BCT 管采集) 并制备血浆, 混入 3 种不同浓度的 DNA 片段, 该片段由人工合成, 长度为 174bp 并含有 EGFR 基因突变 C2573T>G L858R (图 8)。数据基于 3 次独立重复实验, 分别使用 Sera-Xtracta™ Cell-free DNA Kit, QIAamp MinElute™ccfDNA Kit 和 MagMAX™cfDNA Kit (Thermo Fisher Scientific) 从 2mL 血浆中提取 cfDNA。

采用 TaqMan™ 突变检测 (Thermo Fisher Scientific), 通过 qPCR 分析评估试剂盒对突变 DNA 片段的回收效率。下图显示了 Sera-Xtracta™ Cell-free DNA Kit 在低水平突变中表现出优异的性能。

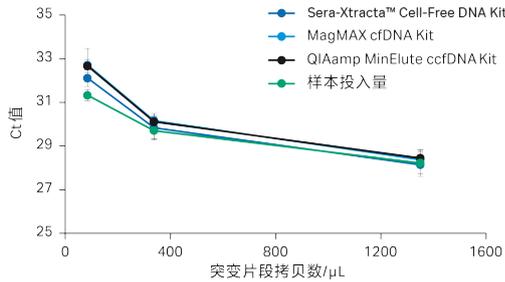


图 8. 向 2mL 血浆中混入 30μL 含有 EGFR L858R 突变 (1350、337.5 和 84.5 拷贝数 /μL) 的 174bp DNA 片段。该图显示了 3 种试剂盒对突变片段的回收效率。突变片段的起始量用绿色 (即投入量) 表示。误差线为标准差。

数据基于至少 3 次独立重复实验。所有样品均经过相同处理 (包括实验重复次数), 并按照生产商的建议进行测试。数据于 2019 年 8-9 月期间收集, 并保存在 Cytiva Cardiff Maynard 中心 (研发实验室)。

Sera-Xtracta™ Cell-free DNA Kit, MagMAX™cfDNA Kit 和 QIAamp MinElute™ ccfDNA Kit 对于 cfDNA 和基因组 DNA 回收效率的对比

使用 Streck™ BCT 管中采集全血 (健康人群) 并制备血浆。按照试剂盒生产商的使用说明, 对 2mL 血浆样本进行 cfDNA 的纯化。纯化后的 cfDNA 在 Agilent™ 2100 Bioanalyzer 上使用高灵敏度 DNA 芯片对其片段分布进行分析 (图 9)。使用 Bioanalyzer 的 Smear 分析分别对 100-270bp 的 cfDNA 和 1-9kb 的残留 gDNA 进行产量计算 (图 10)。

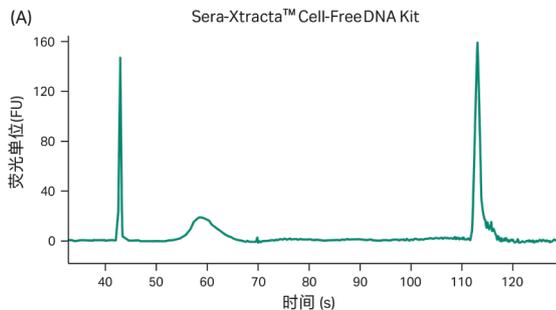


图 9. (A) Sera-Xtracta™ Cell-free DNA Kit

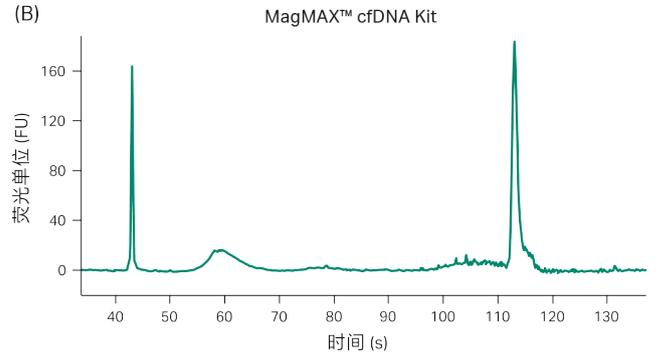


图 10. (B) MagMAX™ cfDNA Kit

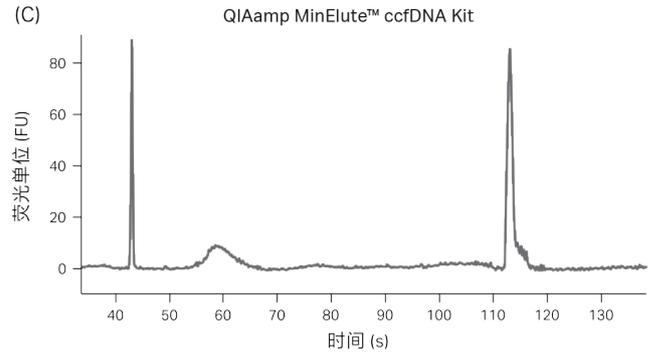


图 11. (C) QIAamp MinElute™ ccfDNA Kit 分离的 cfDNA 在 Bioanalyzer 上的片段分布。

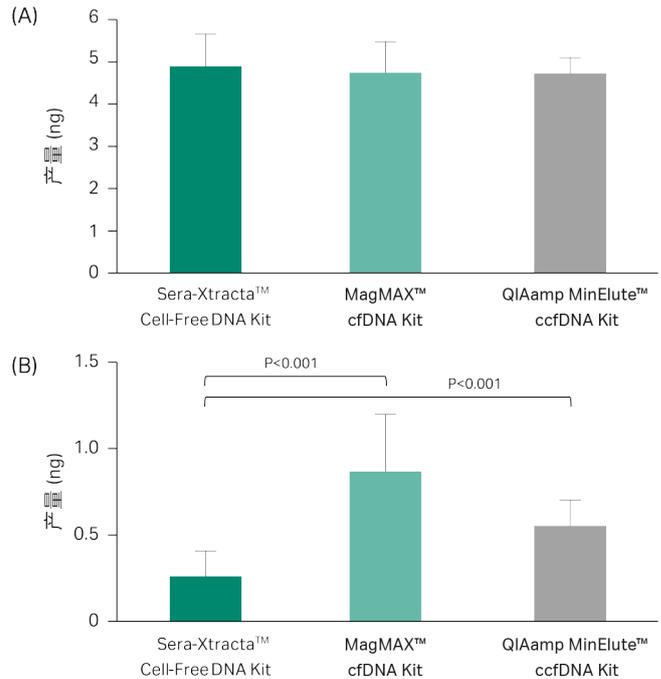


图 12. (A) cfDNA 回收和 (B) gDNA 残留的峰图 (基于 5 次独立重复实验, n=11)。误差线为标准差。数据用 Brown-Forsythe 和 Welch ANOVA Test 的 Dunnett Post Hoc Tests 进行方差分析。与 MagMAX cfDNA Kit 和 QIAamp MinElute ccfDNA Kit 相比, Sera-Xtracta™ Cell-free DNA Kit 的基因组 DNA (>1000bp) 的残留较少。

数据基于至少 3 次独立重复实验。所有样品均经过相同处理 (包括实验重复次数), 并按照生产商的建议进行测试。数据于 2019 年 8-9 月期间收集, 并保存在 Cytiva 英国 Cardiff Maynard 中心 (研发实验室)。

从标准 EDTA 管采集的血液中制备血浆的分析结果

Sera-Xtracta™ Cell-free DNA Kit 在使用 Streck™ BCT 管采集血液进行 cfDNA 分离时表现出良好的性能，同时也兼容其他类型的采集管。从 EDTA 管中采集的血液中制备血浆 (2mL)，并加入 50bp DNA ladder (10ng/mL 血浆)，使用 Sera-Xtracta™ Cell-free DNA Kit 进行 DNA 的回收 (图 11)。

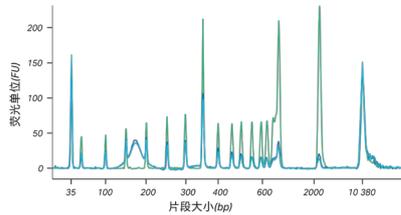


图 13. Bioanalyzer 分析显示标准 EDTA 管制备的血浆中 cfDNA 和 50bp ladder 的片段回收效率 (2 次独立实验分别用为深蓝色和浅蓝色表示，DNA ladder 用绿色表示)。

从标准 EDTA 管和肝素管采集患者血液中制备血浆并进行 cfDNA 的分析

为进一步证明 Sera-Xtracta™ Cell-free DNA Kit 与其他类型采集管的兼容性，使用商业化的标准 EDTA 管和肝素管采集的患者血液并制备血浆。使用 Sera-Xtracta™ Cell-free DNA Kit 对样本进行 cfDNA 的分离，同时对比了 MagMAX cfDNA Kit 和 QIAamp MinElute ccfDNA Kit 的分离效果 (图 12,13)。

注：使用 QIAamp MinElute ccfDNA Kit 和 MagMAX cfDNA Kit 时，血浆样本 NSCLC170427B 含有明显的基因组污染，大量的基因组和 cfDNA 被共纯化。而使用 Sera-Xtracta™ Cell-free DNA Kit 从该样品分离 cfDNA 时，这种高分子量的 DNA 污染被大大减少。

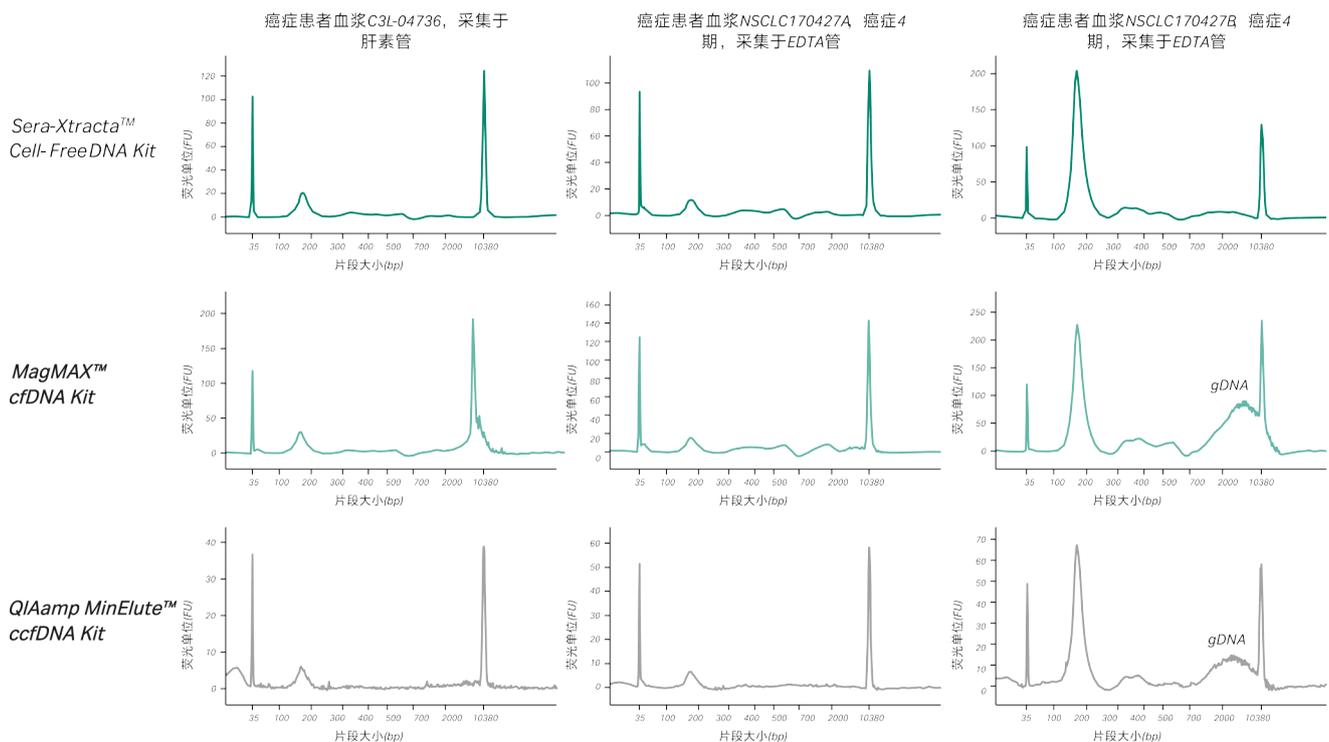


图 12. Sera-Xtracta™ Cell-free DNA Kit, MagMAX™ cfDNA Kit 和 QIAamp MinElute™ ccfDNA Kit 对肝素管和 EDTA 管的兼容性对比。

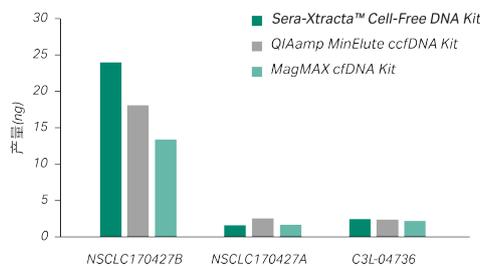


图 14. 使用 Sera-Xtracta™ Cell-free DNA Kit, MagMAX™ cfDNA Kit 和 QIAamp MinElute™ ccfDNA Kit 分离患者血浆中的 cfDNA，并通过 2100 Bioanalyzer 分析回收效率 (主峰约 100–300bp)。根据样本实际投入量作均一化调整。

数据基于至少 3 次独立重复实验。所有样品均经过相同处理 (包括实验重复次数)，并按照生产商的方案和建议进行测试。数据于 2019 年 8-9 月期间收集，并保存在 Cytiva Cardiff Maynard 中心 (研发实验室)。

订购信息

产品	包装规格	产品货号
Sera-Xtracta™ Cell-free DNA Kit	96 次纯化*	29437807

* 基于 2mL 血浆样品投入量

产品	包装规格	产品货号
Sera-Xtracta™ Genomic DNA Kit	96次纯化 (200µL 样品投入量)	29429140
Sera-Mag™ Select	5 mL	29343045
	60 mL	29343052
	450 mL	29343057
PuReTaq Ready-To-Go™ PCR Beads	多孔板, 96 次反应	27955701
	多孔板, 5×96次反应	27955702
	0.5 mL 管, 100 次反应	27955801
	0.2 mL 带盖铰链管, 96 次反应	27955901
GenomiPhi™ V2 DNA amplification kit	100 次反应	25660031
	500 次反应	25660032
Ready-To-Go GenomiPhi V3 DNA amplification kit	96 次反应	25660196
	480 次反应	25660197
GFX™ PCR DNA and Gel Band Purification Kit	10 次纯化	28903466
	100 次纯化	28903470
	250 次纯化	28903471
GFX™ 96 PCR Purification Kit	96 次纯化	28903445
Blood genomicPrep Mini Spin Kit	10 次纯化	28904263
	50 次纯化	28904264
	250 次纯化	28904265
MagRack Maxi	15 mL/50 mL管	28986441
MagRack 6	1.5 mL/2.0 mL管	28948964

关于 Cytiva 思拓凡

Cytiva 思拓凡是全球生命科学领域的先行者，在全球 40 余个国家和地区拥有 8000 名员工，致力于推动未见技术，加速非凡疗法。作为客户可信赖的合作伙伴，Cytiva 专注于生命科学和生物技术的研发，用以开发创新型疫苗、生物药物以及新型细胞和基因疗法。通过提升药物研发和生物工艺的速度、效率和能力，为惠及全球患者开发和生产变革性药物和疗法。

请访问 cytiva.com.cn 获取更多信息。

智荟专线：400 810 9118

官微订阅号：Cytiva

官微服务号：CytivaChina

cytiva.com.cn

Cytiva 和 Drop 标识是 Global Life Sciences IP Holdco LLC 或其附属公司的注册商标。

GFX, Ready-To-Go, Sera-Mag 和 Sera-Xtracta 是 Global Life Sciences Solutions USA LLC 或作为 Cytiva 开展业务的附属公司的商标。

KingFisher, MagMAX 和 TaqMan 是 Thermo Fisher Scientific 的注册商标。Qiagen, QIAamp 和 MinElute 是 Qiagen GmbH 的注册商标。Illumina 和 NextSeq 是 Illumina Inc. 的注册商标。PrenaTest 是 Eurofins Lifecodexx 的注册商标。Streck 和 Cell-Free DNA BCT 是 Streck Inc. 的注册商标。Agilent 和 2100 Bioanalyzer 是 Agilent Technologies Inc. 的注册商标。

所有其他第三方商标都是其各自所有者的财产。

© 2021 Cytiva

所有商品和服务的销售需遵守在 Cytiva 运营之供应商公司的销售条款和条件。

如需查看当地办公室的联系信息，请访问 cytiva.com.cn/contact。

CY15351-04Jan22-FL

