

Sera-Xtracta™ Genomic DNA Kit

全血基因组 DNA 的高效提取和纯化

Sera-Xtracta™ Genomic DNA Kit 为全血基因组 DNA 的提取和纯化提供了有效的解决方案。本产品通过快速便捷操作，以及运用自动化平台来满足实验室日益增长的对核酸纯化通量的需求，并保证结果的稳定性和可靠性。Sera-Xtracta™ Genomic DNA Kit (图 1) 促进了从基于离心柱纯化到磁珠法纯化的转变，纯化的高质量的基因组 DNA 可以实现高灵敏度的检测，且与大多数分子生物学技术兼容，包括克隆，酶切，PCR 扩增，基因分型和下一代测序 (NGS) 等。

Sera-Xtracta™ Genomic DNA Kit 可以纯化出高质量的完整基因组 DNA，最大限度地减少对 DNA 的剪切。整个操作过程可以在 90 分钟内完成，从 200 μ L 样品中纯化出 4-8 μ g 高纯度的 DNA，A260/A280 > 1.7，RNA 残留极少。试剂盒经过优化，可以处理 50-200 μ L 全血。



图 1. Sera-Xtracta™ Genomic DNA Kit 用于从全血中提取和纯化基因组 DNA，试剂盒包括二氧化硅磁珠悬浮液，蛋白酶 K，裂解液，结合缓冲液，2 种洗涤缓冲液和 gDNA 洗脱液。

全血的典型结果

采用 EDTA 管收集血液样本，取 200 μ L 全血使用 Sera-Xtracta™ Genomic DNA Kit 纯化基因组 DNA。进行多次重复实验确保 DNA 的质量，产量和纯度的重现性。

使用 Sera-Xtracta™ Genomic DNA Kit 纯化的样品均分离出高质量的 DNA，含有 ≥ 48 kb 的单一一条带。纯化产物在主条带下方无可见 DNA 弥散和 RNA 污染，表明提取过程对 DNA 的剪切极小 (图 2)。

从 200 μ L 全血中纯化的基因组 DNA (EDTA 管采集) 产量具有非常高的重现性，每次纯化的 dsDNA 平均产量为 4.5 μ g (Qubit™ dsDNA BR) (图 3)，且纯化的 DNA 纯度较高 (图 4)，A260/A280 为 1.76，A260/A230 为 1.96 (NanoDrop™ 2000)。

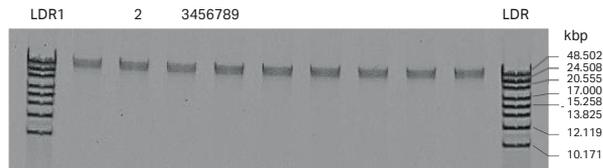


图 2. 纯化的基因组 DNA 凝胶电泳 (0.8% 琼脂糖凝胶，1XTAE 缓冲液)。LDR 标准分子量 marker。

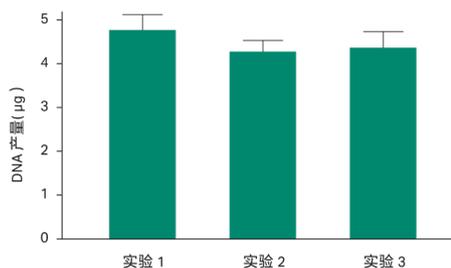


图 3. 200 μ L 全血纯化的基因组 DNA 的产量。数据基于 3 次重复测试 (n = 3); 误差线为标准差。

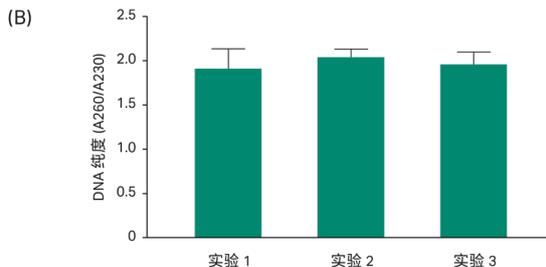
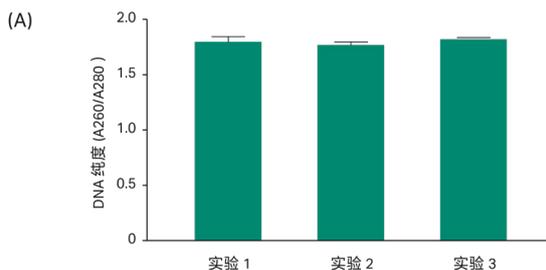


图 4. 200 μ L 全血纯化的基因组 DNA 的纯度。数据基于 3 次重复测试 (n = 9) 误差线为标准差。(A) DNA 纯度 A260/A280; (B) DNA 纯度 A260/A230。

扩展性

Sera-Xtracta™ Genomic DNA Kit 经过优化，可以处理 50-200 μ L 的样本体积，满足不同样本量和产量的需求。

Sera-Xtracta™ Genomic DNA Kit 可以从不同体积的全血中提取 DNA。结果表明投入体积和 DNA 产量之间存在良好的线性相关性。DNA 的平均产量：200 μ L, 6.85 μ g; 100 μ L, 3.40 μ g; 50 μ L, 1.66 μ g (图 5)。

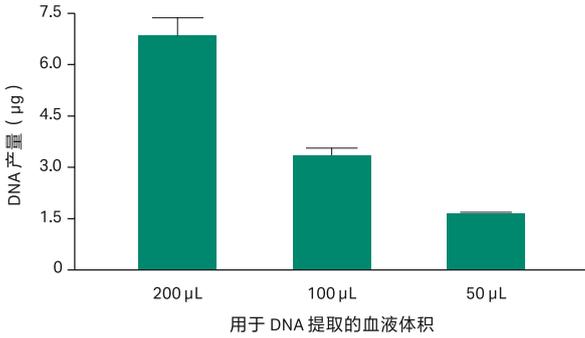


图 5. 50 μ L, 100 μ L 和 200 μ L 全血中纯化的基因组 DNA 的产量。数据基于 4 次重复测试 (n = 4); 误差线为标准差。

比较：使用 KingFisher™ Duo Prime 系统自动化提取 DNA，Sera-Xtracta™ Genomic DNA Kit 与 MagMAX™ DNA Multi-Sample Ultra 2.0 Kit 性能对比

Sera-Xtracta™ Genomic DNA Kit 在基于磁珠的自动化平台 KingFisher Duo Prime 系统 (Thermo Fisher Scientific™) 上运行证明其自动化适应性。

基于手动方案，开发了 Sera-Xtracta™ Genomic DNA Kit 在该平台上自动化运行的步骤*。同时与 MagMAX DNA Multi-Sample Ultra Kit 的自动化运行方案一起进行了检测。并对纯化产物进行回收率和纯度的分析。

* 可向科学支持部门提出请求提供 Kingfisher Duo 平台的自动化运行步骤 (cytivalfesciences.com/en/us/support/contact-us)

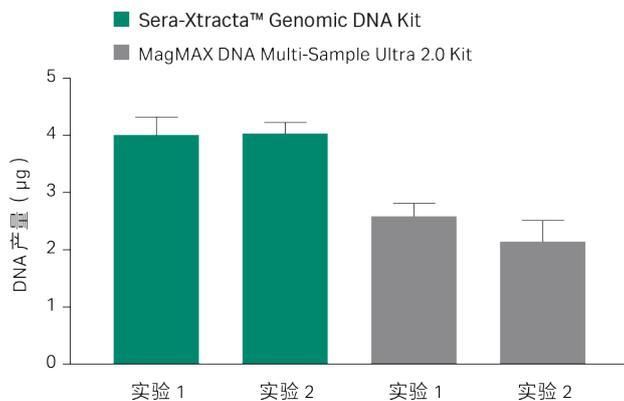


图 6. 200 μ L 全血在 KingFisher Duo Prime 平台自动化提取的基因组 DNA 的产量。数据基于 12 次重复测试 (n = 12); 误差线为标准差。

在 KingFisher Duo Prime 平台上处理相同体积的样本时 (运行相应的自动化方案), Sera-Xtracta™ Genomic DNA Kit 与 MagMAX DNA Multi-sample Ultra 2.0 Kit 纯化的 DNA 都具有良好的纯度, 但 Sera-Xtracta™ Genomic DNA Kit 始终具有较高的产量。

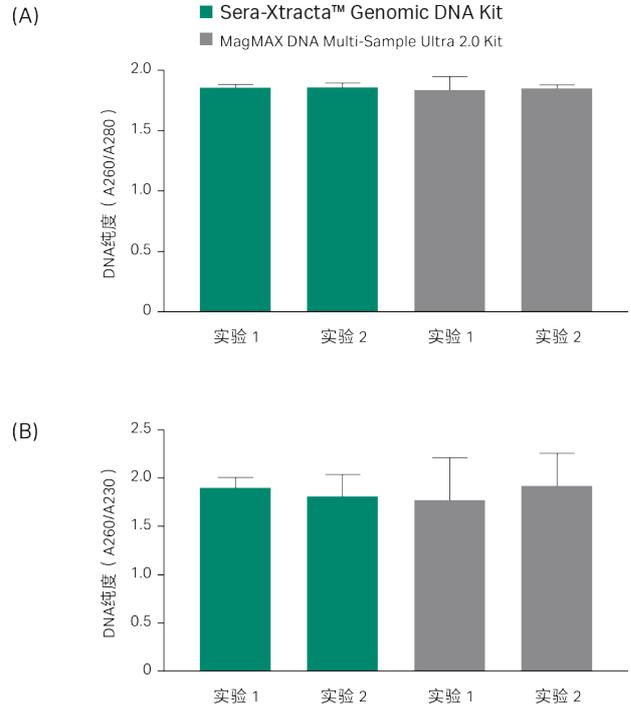


图 7. 200 μ L 全血在 KingFisher Duo Prime 平台自动化提取的基因组 DNA 的纯度。数据基于 12 次重复测试 (n = 12); 误差线为标准差。(A) DNA 纯度 A260/A280; (B) DNA 纯度 A260/A230。

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 10-11 月期间收集, 并保存在 Cytiva Cardiff Maynard 中心 (研发实验室)。

EDTA、肝素和柠檬酸盐管中采集的全血对 PCR 反应的抑制性

一些下游应用如实时定量 PCR (qPCR) 和下一代测序 (NGS) 对血红素, 抗凝剂, 酶和二价阳离子等抑制剂存在高度的敏感性。

将同一受试者的全血分别采集至 EDTA、肝素和柠檬酸盐管中。各取 200 μ L 样本按照 Sera-Xtracta™ Genomic DNA Kit 的标准操作说明提取基因组 DNA。对纯化后的 DNA 进行梯度稀释并使用含有内部对照 (IPC) 的扩增试剂盒进行 qPCR 反应, IPC 用于检测样本中是否含有 PCR 抑制剂 (Quantifiler™ human DNA quantification kit, Thermo Fisher Scientific)。

从 3 种采血管采集的全血所分离的 DNA 中未观察到明显的 PCR 抑制 (图 8)。

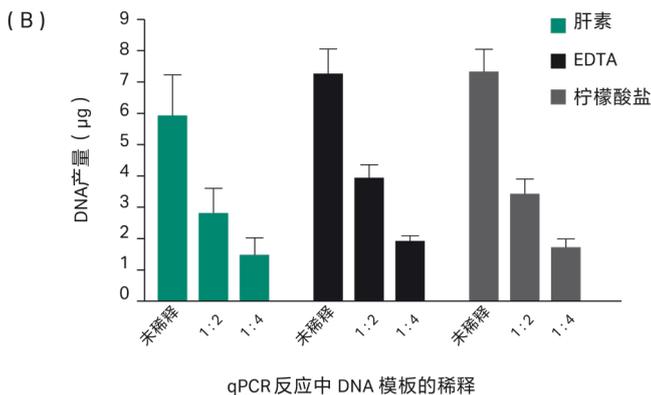
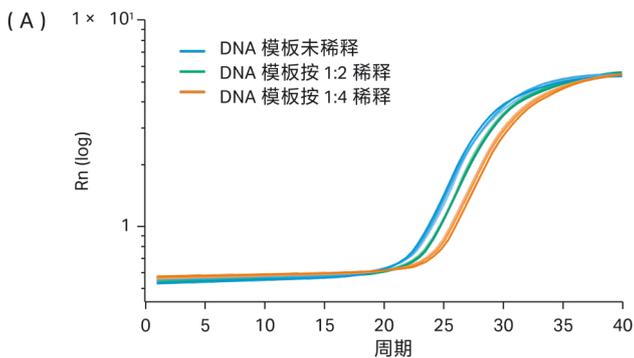


图 8. 从 EDTA, 肝素和柠檬酸盐管采集的全血中分离 DNA 用于 qPCR 反应。(A) 选用 3 种不同浓度的 DNA 模板量进行 qPCR 反应。扩增曲线显示 DNA 模板量与 Ct 值呈线性相关, 表明不存在 PCR 抑制。(B) 数据基于 6 次重复测定 (n = 6), 误差线为标准差。

不同的采血管采集的全血分离 DNA 时, 使用 Sera-Xtracta™ Genomic DNA Kit 纯化的 DNA 未观察到明显的 PCR 抑制作用 (图 8B)。通过调整洗脱体积获得梯度稀释的 DNA 模板, 再进行 qPCR 反应。结果表明 DNA 模板量与 Ct 值高度线性相关, 不存在明显的 PCR 抑制。

3 种采集管的纯化 DNA 在 qPCR 反应中 Ct 值无显著差异 ($p > 0.05$, One-way ANOVA), 无论是初始 DNA 模板, 稀释 DNA 模板 (1:2 和 1:4 稀释) 以及无模板 (不含 DNA) 的内部对照 (IPC) 均未发现明显抑制作用。无模板的 qPCR 反应数据未显示。

Sera-Xtracta™ Genomic DNA Kit 与 MagAttract™ HMW DNA Kit, MagaZorb™ DNA Mini-Prep Kit 和 MagMAX DNA Multi-Sample Ultra Kit 的性能对比

按照相应试剂盒的使用说明, 对 200µL 人体全血进行基因组 DNA 的纯化。对纯化的 DNA 利用 NanoDrop 2000 分析产量和纯度, 并利用 Qubit dsDNA BR 进行定量分析 (图 9 和图 10)。

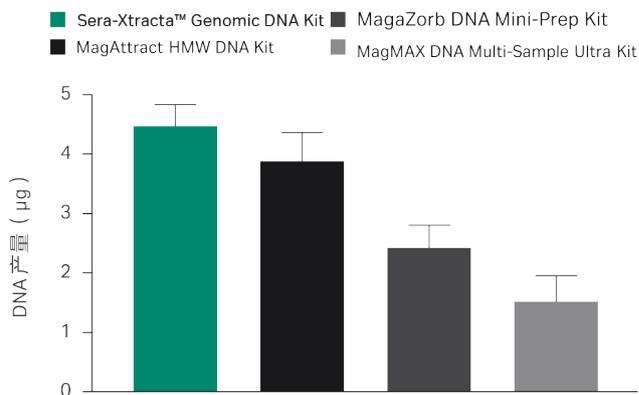


图 9. 3 次独立重复实验下 DNA 产量。数据基于 9 次重复测试 (n=3); 误差线为标准差。与 MagAttract HMW DNA Kit (Qiagen™), MagaZorb DNA Mini-Prep Kit (Promega™) 和 MagMAX DNA Multi-Sample Ultra Kit (Thermo Fisher Scientific) 相比, Sera-Xtracta™ Genomic DNA Kit 从相同血样中纯化的基因组 DNA 的产量更高。

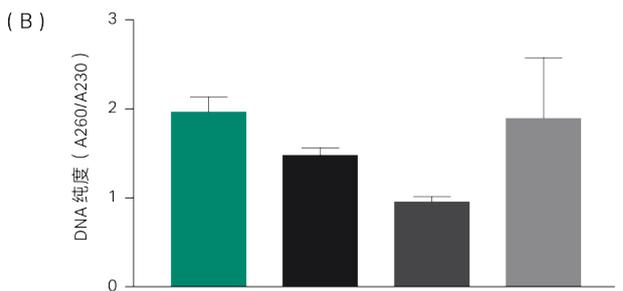
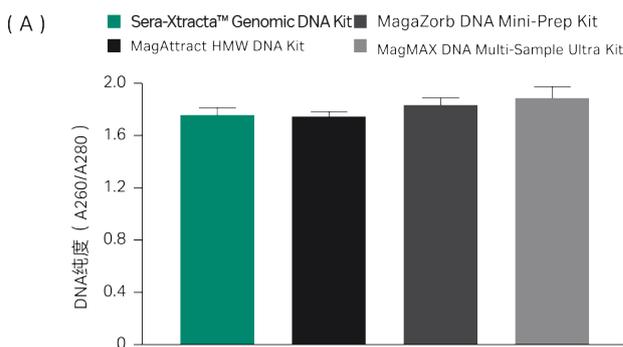


图 10. 3 次独立重复实验下的 DNA 纯度 (A260/A280 和 A260/A230)。数据基于 9 个样品的 3 次重复测试 (n = 27); 误差线为标准差。(A) Sera-Xtracta™ Genomic DNA Kit 纯化的基因组 DNA 纯度 (A260/A280) 始终高于 1.70。(B) 与 MagAttract HMW DNA Kit 和 MagaZorb DNA Mini-Prep Kit 相比, Sera-Xtracta™ Genomic DNA Kit 纯化的基因组 DNA 纯度较高 (A260/230)。

Sera-Xtracta™ Genomic DNA Kit 纯化的高质量 DNA 适用于各种下游应用, 包括实时定量 PCR (图 8, A 和 B) 及下一代测序 (表 1)。

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 10-11 月期间收集, 并保存在 Cytiva Cardiff Maynard 中心 (研发实验室)。

纯化的基因组 DNA 在下一代测序中的应用

对于任何 NGS 平台来说，测序的成功很大程度上取决于 DNA 的质量。其中 DNA 的产量和完整性是非常重要的指标。

Sera-Xtracta™ Genomic DNA Kit 分离的 DNA 样品含有 ≥48kb 的单一条带，无明显的 RNA 污染和 DNA 片段化 (图 1)，因此使用 Sera-Xtracta™ Genomic DNA Kit 纯化的高质量 DNA 非常适用于 NGS 实验。

使用 Sera-Xtracta™ Genomic DNA Kit 从 200µL 全血中分离 DNA，然后使用 Nextera™ DNA Flex library Prep Kit (illumina™20018704) 制备 DNA 文库，并在 NextSeq™ 550 系统上进行高通量测序。

表 1. 使用 Sera-Xtracta™ Genomic DNA Kit 纯化的基因组 DNA 进行下一代测序

| Attribute | Specifications |
|--------------------------------|----------------|
| Total PF reads | 101 595 298 |
| Percent Q30 bases | 87.9% |
| Percent duplicate paired reads | 2.4% |

Read level statistics

| Read | Total aligned reads | Percent aligned reads |
|------|---------------------|-----------------------|
| 1 | 48 845 992 | 96.2% |
| 2 | 48 551 075 | 95.6% |

Base level statistics

| Read | Total aligned bases | Percent aligned bases | Mismatch rate |
|------|---------------------|-----------------------|---------------|
| 1 | 6 670 676 694 | 89.1% | 1.00% |
| 2 | 6 531 989 114 | 87.2% | 1.17% |

Sera-Xtracta™ Genomic DNA Kit 纯化的基因组 DNA 可以与下游 NGS 的文库制备方案完美兼容，能够产出高质量的测序读长。

订购信息

| 产品 | 包装规格 | 产品货号 |
|-------------------------------|---------|----------|
| Sera-Xtracta™ Genomic DNA Kit | 96 次纯化* | 29429140 |

* 基于 200µL 血液样本投入量

| 产品 | 包装规格 | 产品货号 |
|--|----------------------|----------|
| Sera-Xtracta™ Cell-free DNA Kit | 96 次纯化* | 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 |
| GenomiPhi™ V2 DNA amplification kit | 0.2 mL 带盖铰链管, 96 次反应 | 27955901 |
| | 100 次反应 | 25660031 |
| Ready-To-Go GenomiPhi V3 DNA amplification kit | 500 次反应 | 25660032 |
| | 96 次反应 | 25660196 |
| GFX™ PCR DNA and Gel Band Purification Kit | 480 次反应 | 25660197 |
| | 10 次纯化 | 28903466 |
| | 100 次纯化 | 28903470 |
| GFX 96 PCR Purification Kit | 250 次纯化 | 28903471 |
| | 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 |
| Tissue and cells genomicPrep Mini Spin Kit | 50 次纯化 | 28904275 |
| | 250 次纯化 | 28904276 |
| MagRack Maxi | 15 mL/50 mL管 | 28986441 |
| MagRack 6 | 1.5 mL/2.0 mL管 | 28948964 |

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。

GenomiPhi, 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。

MagAttract 和 Qiagen 是 Qiagen 的注册商标。MagaZorb 和 Promega 是 Promega Corp. 的注册商标。Illumina, NextSeq 和 Nextera 是 illumina Inc. 的注册商标。KingFisher, MagMAX, NanoDrop, Quantifier, Qubit 和 Thermo Fisher Scientific 是 Thermo Fisher Scientific 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。

CY15348-28Dec21-DF

