

磁珠法尿液基因组DNA提取试剂盒 MagBeads Urine DNA Extraction Kit

【目录号】UDE-5005、UDE-5010、UDE-5030、UDE-5100

【运输条件】2~25℃；

【保存条件】磁珠分散液 4℃，蛋白酶K -20℃，其它组分室温；

【试剂盒组成】

Kit Component 试剂盒组成	UDE-5005 (50T)	UDE-5010 (100T)	UDE-5030 (300T)	UDE-5100 (1000T)
① MagneticBeads 磁珠悬浮液	4mL	8mL	24mL	75mL
② UDE Buffer ML 裂解液	20mL	40mL	120mL	400mL
③ Wash Buffer 清洗液	30mL	60mL	180mL	600mL
④ Proteinase K 蛋白酶 K	1mL	2mL	6mL	20mL
⑤ Elute Buffer 洗脱液	5mL	10mL	30mL	100mL

【注意事项】

1. 磁珠悬浮液严禁反复冻融和离心，以免磁珠受到损害，使用前务必充分混匀；
2. 蛋白酶K长期不使用，请置于-20℃保存，融化后4℃保存，并尽快使用；
3. 尿液样本应避免反复冻融，否则会导致核酸提取量降低；
4. 本操作指南经本公司反复验证，使用前请仔细阅读，并按照操作指南建议操作。

【产品简介】

本试剂盒适用于从新鲜或冷冻尿液样本中提取基因组DNA，在裂解液（UDE Buffer ML）环境中，基因组DNA特异性的结合于磁珠表面，经过清洗和洗脱等步骤之后，可得到高纯度的基因组DNA产物，OD260/280的比值在1.7~1.9之间，OD260/230的比值大于1.8，完整性好，整个操作过程简单、快速且高效。所得产物可直接用作PCR模板、杂交等下游分子生物学实验。

本试剂盒可手动法在EP管中进行操作，亦可配合核酸提取仪使用，实现自动化、高通量操作。

【试剂盒说明】

样本类型	样本量	DNA提取范围
浓缩尿液	1mL	0~15 μ g

【自备仪器、耗材和试剂】

手动版

涡旋混合仪、水浴锅或金属浴、EP管（2.0mL）、磁力架（适用于EP管）、无水乙醇、异丙醇、磷酸缓冲盐溶液（pH值7.4）。

仪器自动版

涡旋混合仪、水浴锅或金属浴、核酸提取仪、96孔方孔圆底板、EP管（2.0mL）、无水乙醇、异丙醇，磷酸缓冲盐溶液（pH值7.4）。

【手动版操作步骤】

1. 尿样前处理

- 1) 取 10.0~15.0mL 原尿，室温、5000rpm 离心 10min，吸弃上清液至剩余约 1mL 液体；
- 2) 将上述样本转移至 2.0mL EP 管中，室温、10000rpm 离心 2min，吸弃上清液；
- 3) 向 EP 管中加入 500 μ L PBS 溶液，颠倒混匀 3 次，室温、10000rpm 离心 2min，吸弃上清液。

2. 尿样裂解

向EP管中加入400 μ L裂解液和20 μ L蛋白酶K，涡旋振荡充分混匀内容物。置于58℃环境中裂解35min，每隔5min颠倒混匀一次。

3. 核酸与磁珠结合

向裂解完毕 EP 管中加入 75 μ L 磁珠悬浮液（提前摇匀）和 400 μ L 异丙醇，涡旋振荡 10min。

4. 磁性分离

将EP管置于磁力架上静置约20s至磁珠吸附完全，如EP管内盖有残留磁珠，可保持EP管在磁力架上，上下颠倒2~3次，磁珠可完全被磁力架吸附。保持EP管于磁力架上，吸弃上清液，期间避免接触磁珠。

5. 清洗1

向EP管中加入600 μ L清洗液1，将EP管从磁力架上取下，剧烈震荡或吹打使磁珠充分分散，涡旋震荡2min，磁性分离（参照步骤4操作）。

注：若磁珠出现团聚现象，为DNA含量多引起，不影响核酸提取效果。

6. 清洗2

使用600 μ L 80%乙醇，参照步骤5操作2次。

7. 干燥除醇

将清洗完毕并除尽上清液后的EP管置于磁力架上，连同磁力架一起放入45 $^{\circ}$ C真空干燥箱中，干燥约10min至无明显乙醇味。

注：若无真空干燥箱，也可将EP管置于通风橱通风或电风扇直吹约10min，具体时间以除醇完全为原则。

8. 洗脱

取出EP管，加入100 μ L洗脱液，移液枪吹打使磁珠与洗脱液充分混匀，将EP管于58 $^{\circ}$ C环境中洗脱10min，每隔3min涡旋振荡30s，确保磁珠与核酸洗脱完全。

9. 核酸转移

将EP管置于磁力架上静置20s至磁珠吸附完全，用移液枪将洗脱液转移至另一干净EP管中，提取步骤完毕，此时可以弃去磁珠。

【仪器自动版操作步骤】

以下操作步骤以英芮诚ETP-300型全自动核酸提取仪为例，可同步完成32个样本的提取工作。

1. 准备 96 孔板

参照下表用量向96孔板中分别加入相应试剂：

样品位	1、7	2、8	3、9	4、10	5、11	6、12
试剂	磁珠悬浮液：75 μ L 80%乙醇：200 μ L	异丙醇 400 μ L	清洗液 1 600 μ L	80%乙醇 600 μ L	80%乙醇 600 μ L	洗脱液 100 μ L

注：1) 吸取磁珠悬浮液前尽量摇晃均匀；2) 为提高效率建议使用排枪进行操作；3) 试剂加板完毕请尽快使用，防止醇挥发导致结果波动。

2. 尿样前处理

- 1) 取 10.0~15.0mL 原尿，室温、5000rpm 离心 10min，吸弃上清液至剩余约 1mL 液体；
- 2) 将上述样本转移至 2.0mL EP 管中，室温、10000rpm 离心 2min，吸弃上清液；

3) 向 EP 管中加入 500 μ L PBS 溶液，颠倒混匀 3 次，室温、10000rpm 离心 2min，吸弃上清液。

3. 尿样裂解

向 EP 管中加入 400 μ L 裂解液和 20 μ L 蛋白酶 K，涡旋振荡充分混匀内容物。58 $^{\circ}$ C 加热裂解 35min，每隔 5min 颠倒混匀一次。裂解完毕，室温放置 5min，然后室温、12000rpm 离心 1min，待用。

4. 上机提取

将步骤 3 离心完毕裂解液全部转移至 96 孔板第 2/8 列孔位中；将 96 孔板置于核酸提取仪中，插入磁棒套；打开仪器操作软件，调用“尿液 DNA 提取程序”，并运行程序。

“尿液 DNA 提取程序”参数设置如下，如仪器上程序参数与说明书不一致，请以说明书为准：

步骤编号	孔位	运行类型	振荡时间 (秒)	分离时间 (秒)	挥发时间 (秒)	振荡幅度	振荡强度	一组温度 ($^{\circ}$ C)	二组温度 ($^{\circ}$ C)	三组温度 ($^{\circ}$ C)	四组温度 ($^{\circ}$ C)
1	1	磁珠转移	1	5	0	3	强	0	0	0	0
2	2	DNA 结合	120	0	0	4	强	0	0	0	0
3	2	DNA 结合	480	2	0	4	中	0	0	0	0
4	3	清洗 1	240	5	0	5	强	0	0	0	0
5	4	清洗 2	180	5	0	5	强	0	0	0	0
6	5	清洗 3	120	5	300	5	强	0	0	0	0
7	6	DNA 洗脱	360	20	0	2	中	60	60	60	60
8	3	弃磁珠	10	0	0	5	强	0	0	0	0

5. 核酸转移

程序运行完毕，取下 96 孔板，将洗脱液转移至干净的 EP 管或者 PCR 板中，提取过程完毕，此时可弃去 96 孔板。

版权声明：© 英芮诚生化科技（上海）有限公司保留本使用指南所有权利。版本：V201811.291

英芮诚生化科技（上海）有限公司

地址：上海市杨浦区国权北路 1688 号湾谷科技园 A8 座 303 室

电话：021-55809378

网址：www.bio-enriching.com

电子邮件：marketing@bio-enriching.com