

尿液游离 DNA 提取试剂盒

说明书

【包装规格】

50 人份/盒 100 人份/盒

【预期用途】

用于核酸的提取、富集、纯化等步骤。其处理后的产物可用于临床体外检测使用。

【技术原理】

尿液游离 DNA 提取试剂盒适用于从尿液等体液样本中快速、高效地提取游离 DNA (ctDNA, cfDNA) 片段。提取过程选用高效吸附核酸的超顺磁性纳米微球和安全环保的体系, 含经过独特表面修饰、结合核酸能力更强的磁珠, 提取的产物质量更加稳定可靠, 可直接用于下游操作 (基因测序 (如无创产前基因检测、肿瘤检测)、文库构建等)。

【主要组成成分】

50 人份/盒 M1311

组分名称	规格	数量	备注
磁珠	1.8ml	1 管	室温保存
裂解液	40ml	1 瓶	RT, 首次使用前每瓶请加入 5ml 异丙醇
试剂 I	1.8ml	1 管	室温保存
清洗液 I	13ml	1 瓶	室温保存, 首次使用前请加入 17ml 无水乙醇
清洗液 II	12ml	1 瓶	室温保存, 首次使用前请加入 48ml 无水乙醇
洗脱液	5ml	1 瓶	室温保存

100 人份/盒 M1312

组分名称	规格	数量	备注
磁珠	1.8ml	2 管	室温保存
裂解液	80ml	1 瓶	RT, 首次使用前每瓶请加入 10ml 异丙醇
试剂 I	1.8ml	2 管	室温保存
清洗液 I	26ml	1 瓶	室温保存, 首次使用前请加入 34ml 无水乙醇
清洗液 II	24ml	1 瓶	室温保存, 首次使用前请加入 96ml 无水乙醇
洗脱液	5ml	1 瓶	室温保存

需自备的试剂：无水乙醇（AR 级）、异丙醇（AR 级）

需自备仪器：磁力架，高速离心机，低速离心机，恒温混匀仪，垂直混合仪

【储存条件及有效期】

室温条件下运输、保存，有效期 12 个月。

【操作步骤】

1. 低温保存的尿液样品室温静置完全解冻，室温 3000 rpm 离心 10 分钟（新鲜样品直接离心）。
2. 向 2 mL 无核酸酶离心管中加入 **Magnetic Beads** 30 μ L，**Reagent I** 30 μ L，**Lysis Buffer** 750 μ L，及离心后的样品 500 μ L 尿液，旋紧离心管的盖子。
3. 将离心管放在垂直混合仪上，12 rpm 室温混匀 15 min。
4. 静置 2.0 mL 离心管于磁力架上 1 分钟，吸弃上清。
5. 向 2.0 mL 离心管中加入 500 μ L **Washing Buffer I**，用手轻弹管底，轻柔混匀磁珠。混匀后，放回磁力架，室温静置 1 分钟，吸弃上清。
6. 向 2.0 mL 离心管中加入 500 μ L **Washing Buffer II**，用手轻弹管底，轻柔混匀磁珠后，放回磁力架，室温静置 1 分钟，吸弃上清。
7. 重复 6 一次。
8. 将 2.0 mL 离心管在离心机 3000 rpm 上离心 2 min，放回磁力架，吸弃残留液体，要尽可能吸完全。
9. 56 $^{\circ}$ C 恒温晾干 5 min。
10. 将 2.0 mL 离心管从磁力架上取下放在离心管架上，向 2.0 mL 离心管加入 50 μ L **Elution Buffer**，轻弹管底，混匀磁珠。
11. 将上述混合液放入 56 $^{\circ}$ C 水浴锅中反应 10 分钟，中间轻弹混匀 3-4 次。
12. 将 2.0 mL 离心管瞬时离心后放回磁力架，用移液器吸取上清至 1.5 mL 离心管保存于 -20 $^{\circ}$ C 冰箱。

【注意事项】

1. 操作之前，请务必认真阅读本产品手册。
2. 样品应避免反复冻融，否则会导致样本中的 DNA 降解从而减少 DNA 提取量。
3. 本试剂盒中单次可以提取 0.5-1.0 mL 尿液样品。
4. **Reagent I** 可室温储存。
5. 第一次使用前应按照试剂瓶标签的说明先在 **Lysis Buffer** 中加入异丙醇，**Washing Buffer I** 和 **Washing Buffer II** 中加入无水乙醇。
6. 如果下游实验对 RNA 污染比较敏感，可加入 4 μ L 无 DNA 酶的 RNA 酶（DNase Free RNase A）（100mg/ml），RNase A 本试剂盒并未提供。

【提取结果的确认】

由于尿液中游离 DNA 含量低，Nanodrop 等微量分光光度计不能准确定量 DNA 含量。建议采用 Invitrogen Qubit 或 Agilent 2100 Bioanalyzer 检测提取 DNA 含量。

【提取方法的局限性】

DNA 产量低的原因及解决方法：

问题 1—裂解不完全；解决方法：确保在裂解过程中加了试剂 I；延长裂解时间；裂解过程保持颠倒混匀。

问题 2—加入磁珠量不足；解决方法：加磁珠前确保磁珠充分混匀。

问题 3 在清洗过程中磁珠丢失；解决方法：在吸取上清时，保持离心管在磁力架上。

问题 4 洗脱条件与时间不对；解决方法：确保用本试剂盒提供的洗脱液，洗脱在 55℃ 水浴中进行，中间轻轻晃动使核酸充分洗脱，也可以适当增加洗脱时间。