

YALEPIC[®] 磁珠法游离 DNA 大量提取试剂盒

YALEPIC[®] MagEVO Urine cfDNA Maxi Extraction Kit

产品货号: YM26015

产品保存及运输条件:

常温运输; 10 ~ 30°C 室温保存。

产品概述

YALEPIC[®] MagEVO Urine cfDNA Maxi Extraction Kit 采用具有独特分离作用的纳米磁珠和特制的缓冲液系统, 从 1 ~ 10 ml 尿液中纯化回收高质量的游离 DNA。本试剂盒操作简化便捷, 对低分子量核酸定向优化, 具有提取效率高、核酸纯度高、重复性强等优点。纯化得到的游离 DNA 质量稳定、可靠, 下游应用范围广泛, 可进行定量 PCR、NGS、文库构建等实验, 适用于高通量工作站的自动化提取。

产品组分

序号	产品组分	YM26015 (2 ml x 48 T)
①	CMF Buffer	135 ml
②	SD Buffer	6 ml
③	Wash Buffer GA	110 ml
④	Wash Buffer CFGB	110 ml
⑤	Magbeads MN	1.5 ml
⑥	Proteinase K	1.5 ml
⑦	Nuclease-free ddH ₂ O	15 ml

适用范围

适用于尿液样本。

自备试剂及仪器

2/15 ml 磁力架或核酸提取仪; 恒温混匀仪或涡旋振荡仪; Nuclease-free 移液器吸头; Nuclease-free 离心管 (不同规格)。

实验准备及注意事项

1. 使用本试剂盒前做好防护措施，穿戴实验服、手套、口罩等。使用 Nuclease-free 的移液器吸头和消耗品，试剂使用完后立即盖好瓶盖，避免交叉污染的风险。
2. 新鲜样本应尽快处理或分装后在 -70°C 保存，避免反复冻融。冷冻后的样本融化后需 $1,800 \times g$ 离心 2min 后取上清进行实验。
3. **Proteinase K** 溶液长时间使用可放置 -20°C 长期保存，以免影响其活性。
4. 样品应尽量新鲜且避免反复冻融，否则可能会导致提取的 DNA 片段较小，提取量低。
5. 使用前先检查 **CMF Buffer**、**SD Buffer** 是否出现结晶或沉淀，如有结晶或沉淀，可在 50°C 水浴数分钟，即可恢复澄清。
6. **Magbeads MN** 请勿冻存及高速离心，使用前只需涡旋振荡数秒混匀。

实验流程

● 手动操作：

1. 将尿液 $3,000 \times g$ ，离心 15 min，吸取上清至一个新的离心管（自备）中。
2. 根据样品体积按下表选择合适规格的离心管并**从左到右**依次将 Proteinase K，尿液，SD Buffer 添加到离心管（自备）中。（注：勿将 SD Buffer 直接加入 Proteinase K 中）

Proteinase K (μl)	尿液样本 (ml)	SD Buffer (μl)	离心管
15	1	50	5/15 ml
30	2	100	15 ml
60	4	200	15 ml
150	10	500	50 ml

3. 将上述溶液置于 60°C ，1,200 rpm 的恒温混匀仪上振荡裂解 20 min，孵育结束后将离心管冰浴 5~10 min。（注：或涡旋振荡 10 s 后，于 60°C 水浴孵育，每隔 7 min 涡旋混匀 5~10 s）
4. 按下表将 CMF Buffer 和 Magbeads MN 加入一个新的离心管，准备**裂解液/磁珠混合液**并混合均匀。

尿液体积 (ml)	CMF Buffer (ml)	Magbeads MN (μl)	总体积 (ml)
1	1.25	15	1.265
2	2.5	30	2.53
4	5	60	5.06
10	12.5	150	12.65

5. 将步骤 3 准备的**裂解液/磁珠混合液**混合均匀后加入步骤 2 样本管中。涡旋振荡 1 min 后, 手动上下颠倒或使用混匀仪混匀 5~10 min, 使磁珠一直处于悬浮状态。
6. 将离心管置于磁力架上, 待管内溶液变澄清后, 翻转离心管冲洗管盖上残留的磁珠, 再静置 1min 后弃去溶液。
7. 向离心管中加入 1 ml **Wash Buffer GA** (使用前检查是否加入无水乙醇), 将离心管从磁力架上取下, 震荡混匀后将溶液转移至新的 1.5 ml 离心管 (自备) 中。 (注: 若原管壁上有残留磁珠, 可再加入 100 μ l **Wash Buffer GA** 漂洗, 然后转移至离心管中)
8. 将 1.5 ml 离心管放置于磁力架上静置 1 min, 待磁珠充分吸附, 小心吸弃溶液。
9. 向管中加入 1 ml **Wash Buffer GA** (使用前检查是否加入无水乙醇), 涡旋振荡混匀 5 s 后, 将离心管放于 25°C, 1,600 rpm 的恒温混匀仪上振荡结合 2min。
10. 将离心管固定于磁力架上静置 1 min, 待磁珠充分吸附, 小心吸弃溶液。
11. 向管中加入 1 ml **Wash Buffer CFGB** (使用前检查是否加入无水乙醇), 涡旋振荡混匀 5 s 后, 将离心管放于 25°C, 1,600 rpm 的恒温混匀仪上振荡结合 2min。
12. 将离心管固定于磁力架上静置 1 min, 待磁珠充分吸附, 小心吸弃溶液。
13. 重复步骤 10~11。
14. 将离心管瞬时离心后, 重新置于磁力架上, 用移液器吸弃管底溶液。将离心管保持开盖状态固定于磁力架上静置 5 ~ 10 min, 使乙醇充分挥发。 (注: 切勿过度干燥磁珠, 以免难以洗脱)
15. 向离心管中加入 50 ~ 100 μ l **Nuclease-free ddH₂O**, 涡旋振荡 5 s 混匀后, 将离心管放于 1,600 rpm 的恒温混匀仪上室温振荡 10 min。
16. 将离心管放置于磁力架上静置 2 min, 待 **Magbeads MN** 完全吸附之后, 将洗脱液转移至新的 1.5 ml Nuclease-free 离心管 (自备) 中, -20°C 保存。

- **全自动核酸纯化仪:** 根据选用仪器型号进行试剂分装及程序设定。

本产品仅供研究使用, 请勿用于临床诊断。