

尿液微生物 DNA 提取试剂盒说明书（磁珠法）

【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。

【主要组成成分】

50 人份/盒 M1321

组分名称	规格	数量	备注
Lysis Buffer	30 ml	1 瓶	室温保存（15-25℃）
Magnetic Beads	3 ml	1 瓶	2-8℃保存
Elution Buffer	2 ml	1 管	室温保存（15-25℃）

100 人份/盒 M1322

组分名称	规格	数量	备注
Lysis Buffer	60 ml	1 瓶	室温保存（15-25℃）
Magnetic Beads	6 ml	1 瓶	2-8℃保存
Elution Buffer	4 ml	1 瓶	室温保存（15-25℃）

需自备仪器：涡旋振荡器、常温高速离心机、掌上迷你离心机、水浴锅、96 孔侧边磁力板架；

需自备试剂：无水乙醇（AR 级）、液氮；

需自备耗材：0.2mLPCR 管、1.5ml 离心管、15-50ml 离心管；

【储存条件及有效期】

Magnetic Beads 2-8℃条件下运输、保存，其余试剂室温（15-25℃）条件下运输、保存，有效期 12 个月。

【样本要求】

适用样本类型：尿液样本

【检验方法】

1. 试验前准备

1.1 提取前先配置好 80%无水乙醇。

2. 核酸提取

1. 低温保存的尿液样品室温静置 30 min 至完全解冻，配置 80% 的乙醇。

2. 取足量尿液（10-50 mL），12000 rpm 离心 10 min（新鲜样品直接离心）；去除上清留沉淀。

3. 向沉淀中加入 **Lysis Buffer 500 μ L**, 吹打混匀, **65 $^{\circ}$ C**水浴 **10 min**, 中间摇匀 **2-3** 次。
4. 旋紧步骤 2 中离心管盖, 放入液氮至完全冰冻, 拿出放入 65 $^{\circ}$ C 水浴锅 2-3 min, 该步骤重复三次 (最后一次水浴延长时至 10-15 min)。
5. 取 80 μ L 上清液至新的 200 μ L PCR 管中, 加入 40 μ L **Magnetic Beads**, 用枪反复吸打混匀至少 10 次, 室温静置 5 min。
6. 快速离心 PCR 管 (使壁和管盖液体流入管底), 然后垂直置于磁力板架 (可选用麦伯 M8031/96 孔侧边磁力板架) 上, 待 PCR 管中的液体澄清 (约 5 min) 后, 小心吸除上清液 (勿碰触到磁珠)。
7. 在步骤 6 的 PCR 管中加入 200 μ L 80 % 的乙醇清洗磁珠表面 30s (无需吹打), 然后小心的吸除上清废液 (该过程 PCR 管一直置于磁力板架上)。
8. 重复步骤 7。
9. 瞬时离心, 将残余的液体去除干净, 晾干直至磁珠完全龟裂 (约 10 min)。
10. 加入 30 μ L 的 **Elution Buffer**, 吸打混匀磁珠 (此步骤操作时 PCR 与磁力板架保持分离);
11. 将上述 PCR 管再次置于到磁力板上, 待磁珠和液体分离, 直到液体澄清, 用移液器吸取上清至 1.5 mL 离心管并保存于 -20 $^{\circ}$ C 冰箱。