

核酸提取或纯化试剂说明书

【产品名称】核酸提取或纯化试剂

【包装规格】10 次/盒，20 次/盒，40 次/盒。

【主要组成成分】

规格 组分	10 次/盒	20 次/盒	40 次/盒
中量离心柱	10 个/包×1	10 个/包×2	10 个/包×4
微量离心柱	10 个/包×1	20 个/包×1	40 个/包×1
15 ml 离心管	10 个/包×1	10 个/包×2	10 个/包×4
1.5ml 离心管	10 个/包×1	20 个/包×1	40 个/包×1
溶液 GH	60ml/瓶×1	120ml/瓶×1	120ml/瓶×2
溶液 W1A	9ml/瓶×1	18ml/瓶×1	18ml/瓶×2
溶液 W2	12ml/瓶×1	24ml/瓶×1	24ml/瓶×2
溶液 TE	12ml/瓶×1	12ml/瓶×2	12ml/瓶×3
Proteinase K	10mg/管×1	10mg/管×2	10mg/管×4
溶液 BK	7.5ml/瓶×1	12ml/瓶×1	25ml/瓶×1
溶液 XR	12ml/瓶×1	25ml/瓶×1	30ml/瓶×1
说明书	1 份	1 份	1 份

【储存条件及有效期】Proteinase K（固体）置于 2~8℃长期保存。如 Proteinase K 溶解后未立即用完，应按每次用量分装成小份后-20℃保存备用，避免因反复冻融导致酶活力下降。其余组分储存在环境温度-40℃~40℃，相对湿度不大于 75%，无腐蚀性气体的避光处。有效期：24 个月。

【预期用途】用于核酸的提取、富集、纯化等步骤。其处理后的产物用于临床体外检测使用。

【检验原理】产品为离心柱类核酸提取试剂。在缓冲液作用下，游离 DNA 吸附于高性能固相基质上，洗脱后获得高纯度核酸。

【适用仪器】可离心 15ml 管的离心机，可离心 1.5ml 管的离心机，37℃水浴。

【样本要求】适用于从新鲜血液或血浆中提取游离 DNA。如需暂时保存样品，可使用游离 DNA 专用血液采集管（市面有售）按其说明书操作，也可按操作步骤“1”离心分离得到样品血浆，将血浆置于-70℃冷冻保存。

【检验方法】

●使用前准备

※ 阅读说明书，熟悉操作步骤，备好所需试剂及材料。自备试剂耗材：无水乙醇、异丙醇、15ml离心管、纯水。盒中的 15ml离心管和 1.5ml离心管专用于步骤“6”与步骤“12”。

※ 首次使用前，分别向溶液W1A和W2 瓶中按标签要求加入无水乙醇，摇匀后标记备用。每管Proteinase K首次使用前加入 550μl纯水完全溶解。

※ 离心均室温进行。

●操作步骤

1、样品处理：

1.1 血液：将新鲜血液移入 15ml离心管中，800×g离心 10min。将血浆移入新的 15ml离心管中，1600×g离心 10min。至步骤“2”。

1.2 血浆：将血浆（冷冻血浆需完全融化）移入 15ml离心管中，1600×g离心 10min。至步骤“2”。

2、取新的 15ml 离心管，先加入 Proteinase K 20μl，再加入 2ml 离心后上层血浆，然后加入 2ml 溶液 GH，漩涡混匀 15sec。37℃温育 10min。加入 2ml 异丙醇，充分混匀。

注 1：血浆离心后如液面上漂浮一层不溶物，移取血浆时应尽量避免吸入。

注 2：按照顺序加入各试剂，不可将 Proteinase K 直接加入溶液 GH 中。

注 3：一次可处理 1~5ml 血浆。处理多于 5ml 血浆时，需另行购买 Proteinase K 和溶液 GH。处理多于 2ml 血浆时，需要在步骤“3”中多次离心。血浆用量不为 2ml 时，需根据血浆用量调整 Proteinase K、溶液 GH 及异丙醇用量。每毫升血浆需加入 10μl Proteinase K，溶液 GH 和异丙醇用量等于血浆体积。例如处理 4ml 血浆，需使用 40μl Proteinase K、4ml 溶液 GH 及 4ml 异丙醇。

3、将混匀后的液体移入套有收集管的中量离心柱中（如液体多于6ml时，需分数次离心过柱，每次6ml）。最高转速（6000×g 以上）离心3min。弃去收集管中废液，将离心柱放回。

- 4、向柱中加入2.5ml溶液W1A，最高转速（6000×g以上）离心2min。弃废液，将离心柱放回。
- 5、向柱中加入4ml溶液W2，最高转速（6000×g以上）离心2min。弃废液，将离心柱放回。
- 6、向柱中加入2ml无水乙醇，最高转速（6000×g以上）离心15min。将离心柱从收集管中小心取出（勿让离心柱碰到废液），放入新的15ml离心管中，开盖放置15min。
- 注：长的离心及开盖放置时间用来除去降低洗脱效率的残留乙醇。如果离心力低于6000×g，可将离心柱在恒温箱中70℃放置15min，或延长室温放置时间至30min。
- 7、提取DNA用于PCR按7a进行，提取DNA用于建库测序按7b进行。（“7a”保留所有DNA片段，“7b”去除50bp以下短片段DNA。）
- 7a、向离心柱中加入300μl溶液TE，室温放置2~3min，最高转速（6000×g以上）离心5min。再向离心柱中加入200μl溶液TE，室温放置2~3min后最高转速（6000×g以上）离心5min。弃去离心管内的中量离心柱，向管内收集的液体中加入等体积的溶液BK，充分混匀。再加入与BK用量相同体积的无水乙醇，充分混匀。至步骤“8”。
- 7b、向离心柱中加入400μl溶液TE，室温放置2~3min，最高转速（6000×g以上）离心5min。再向离心柱中加入300μl溶液TE，室温放置2~3min后最高转速（6000×g以上）离心5min。弃去离心管内的中量离心柱，向管内收集的液体中加入等体积的溶液XR，充分混匀。至步骤“8”。
- 注1：过柱时溶液TE会少量残留在离心柱中，因此离心管中收集的液体体积并不等于TE添加体积，需根据收集液体的实际体积准确添加溶液BK或XR。
- 注2：离心时加大转速可提高DNA洗脱效率。
- 8、将不多于650μl的混匀液移入套有收集管的微量离心柱中，5000×g离心2min。弃去收集管中废液，将离心柱放回。
- 重复此步骤1次使步骤“7”的混匀液全部通过微量离心柱。
- 注：本步及后续步骤中离心后如发现微量柱中有液体存留时，需增加转速再次离心使液体全部滤过。

9、向柱中加入200μl溶液W2，5000×g离心1min。弃废液，将离心柱放回。

10、重复步骤“9”一次。

11、12000×g离心2min。

12、将离心柱取出后放入新的1.5ml离心管中（使用前将离心管柄处按包装袋上示意图做弯折处理）。向柱中央加入溶液TE 5~20μl，室温放置2~3min，12000×g离心1min。DNA溶液收集在离心管中。

注）：为提高得率，可向柱中央再加入 5~20μl 溶液 TE，室温放置 2min 后 12000×g 离心 1min 收集 DNA 溶液，注意这会增大溶液体积从而降低 DNA 浓度。也可将离心收集的 DNA 溶液重新加回柱膜中央后室温放置 2min，12000×g 离心 1min 收集液体，这可提升核酸浓度但在提高得率方面稍逊于前法。

注意！取 DNA 溶液用于后续分析时，小心吸取上部液体即可，不可在振摇或吸打混匀液体后移取，这会吸入底部已沉淀的柱上脱落微粒，可能造成某些分析仪器（例如毛细管电泳类分析仪）堵塞。如确实需要混匀 DNA 溶液，在混匀后或仪器分析前将液体 12000×g 离心 1~2min 取上液即可。

【检验方法的局限性】仅适用于【样本要求】中注明的样本类型。

【产品性能指标】1. 外观与结构：包装完整无破损，标签清晰，液体无泄漏。

2. 精密度：提取 DNA 的变异系数（CV）小于 25%

3. 稳定性：试剂（Proteinase K 除外）40℃放置 7 天后符合 2 项。

【注意事项】※盒中试剂如不慎溅到皮肤、粘膜时，立即用大量清水冲洗干净。

※离心柱、离心管为一次性产品。用后废弃物按相关医疗垃圾处理。

【标识的解释】 min~分钟 sec~秒钟 g~相对离心力单位

【基本信息】生产企业及售后服务单位：宁波市重鼎生物技术有限公司

住所：宁波高新区院士路 66 号创业大厦 3-21-8

生产地址：宁波市望春工业园区聚才路 717 号

联系方式：电话：4008780133

生产备案凭证编号：浙甬食药监械生产备 20150055 号

【医疗器械备案凭证编号/产品技术要求编号】浙甬械备 20150181 号

【说明书核准日期及修改日期】核准日期：2015-3-15 修改日期：2018-7-20