

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】 50 次/盒，100 次/盒，200 次/盒。

【主要组成成分】

规格 组分	50 次/盒	100 次/盒	200 次/盒
1.5 ml 离心管	1×50 个/包	2×50 个/包	4×50 个/包
微量离心柱	1×50 个/包	2×50 个/包	4×50 个/包
溶液 ST	1×15ml/瓶	1×30ml/瓶	2×30ml/瓶
溶液 GH	1×15ml/瓶	1×30ml/瓶	2×30ml/瓶
溶液 W1	1×8ml/瓶	1×20ml/瓶	2×20ml/瓶
溶液 W2	1×6ml/瓶	1×12ml/瓶	2×12ml/瓶
溶液 TE	1×12ml/瓶	1×12ml/瓶	1×12ml/瓶
玻璃珠	1×15g/瓶	1×15g/瓶	1×30g/瓶
Proteinase K	1×2mg/管	2×2mg/管	3×2mg/管
RNase A	1×2mg/管	2×2mg/管	3×2mg/管
说明书	1 份	1 份	1 份

【储存条件及有效期】

Proteinase K（固体）及 RNase A（固体）置于 2~8℃长期保存。Proteinase K 及 RNase A 溶解后未立即用完，应按每次使用量分别分装成小份后-20℃保存备用，避免因反复冻融造成酶活力下降影响提取效果。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】在产品缓冲液的作用下，细菌 DNA 从样本中快速释放，吸附于高性能的固相基质，洗脱后即可获得高纯度 DNA。

【适用仪器】小型高速离心机。

【样本要求】适用样本：血液、血培养基、痰液等呼吸道样本、漱口水、拭子、粪便及其他临床样本。取得样本后，应尽快提取。如不能及时处理，应冷藏保存。

【检验方法】

● 使用前准备

※ 阅读说明书，熟悉操作方法。自备试剂耗材：生理盐水、纯水、无水乙醇、合适规格的离心管。盒中的 1.5 ml 离心管专用于收集最后一步的洗脱液。

※ 室温过低时需观察溶液 ST 是否有沉淀。若出现沉淀时，50℃~60℃水浴至沉淀溶解溶液澄清，摇匀后使用。

※ 首次使用前，分别向溶液W1 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和RNase A首次使用前各用 400μl纯水完全溶解。

※ 离心均室温进行。

● 操作步骤

1、 样本的处理：

1.1 血液：取 1~1.5ml血液。12000×g离心 3min。弃去上层血浆及 2/3 的上层血细胞，在下层细胞中加入 1ml纯水，混匀。至步骤“2”。

1.2 痰液等呼吸道样本、脑脊液、漱口水及其他临床液体样本：取液体 1~1.5ml（样本过于黏稠时，用适量生理盐水稀释后取样），至步骤“2”。

1.3 拭子：取拭子头于离心管中，用适量生理盐水清洗拭子。取清洗液，至步骤“2”。

1.4 粪便：取适量粪便（不少于 200mg即可，称重并计算体积，每 1mg粪便体积约为 1μl）于离心管中，加入 5 倍体积的生理盐水，漩涡剧烈混匀 2min。50×g 离心 1min，取上液 200μl，至步骤“2”。

2、最高转速（12000×g 以上）离心 2min，弃上清。向管中加入玻璃珠 100mg 及 200μl 溶液 ST，最高转速涡旋 5~10 min。

3、向管中加入 Proteinase K 5μl 及 RNaseA 5μl，混匀。56℃孵育 15~30min。

- 4、向管中加入 200μl 溶液 GH 及 200μl 无水乙醇，充分混匀。12000×g 离心 2min。
- 5、将上清液移入套有收集管的微量离心柱中。8000×g 离心 2min。取出离心柱后弃去收集管中废液，将离心柱放回收集管中。
- 注：本步及后续步骤中离心后如发现微量柱中有液体残留时，需增加转速再次离心使液体全部滤过。
- 6、向离心柱中加入 200μl 溶液 W1，8000×g 离心 1min。
- 7、向离心柱中加入 200μl 溶液 W2，8000×g 离心 1min。弃废液，将离心柱放回。
- 8、重复步骤“7”一次。
- 9、12000×g 离心 2min。
- 10、将离心柱取出后放入新的 1.5ml 离心管（使用前将离心管柄处按包装袋上示意图做弯折处理）中。向柱中央加入 5~20μl 溶液 TE。室温放置 2~3min，12000×g 离心 1min，DNA 溶液即被收集在离心管中。

注)：为提高得率，可向柱中央再加入 5~20μl 溶液 TE，室温放置后离心收集 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 DNA 浓度但在提高得率方面稍逊于前法。

下为用溶液 TE 按不同方法洗脱微量柱中 gDNA 的回收率（供参考）。

加入溶液 TE 体积		5μl	20μl
回收率	步骤“10”洗脱后	64%（5μl）	76%（20μl）
	向柱中再加入溶液 TE 洗脱后	82%（10μl）	92%（40μl）
	将步骤“10”收集的 DNA 溶液重新加回柱中再次洗脱后	71%（5μl）	87%（20μl）

*括号内为收集的 DNA 溶液总体积。

注意！吸取 DNA 溶液用于后续分析及实验时小心吸取上部液体即可，不可振摇或吸打混匀液体。这会吸入底部已沉淀的从柱子上脱落的微小颗粒，可能造成后续实验仪器堵塞。

- 【阳性判断值或者参考区间】不适用。
- 【检验结果的解释】不适用。
- 【检验方法的局限性】方法仅适用于【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：提取的核酸量变异系数（CV）小于 25%
 - 3. 稳定性：试剂（酶制剂除外）40℃放置 7 天后符合 2 项。
- 【注意事项】
- ※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。使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
- 【参考文献】
- 专利：一种用于核酸纯化的离心柱 实用新型专利 CN 203044181U
- 【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 20150182 号
- 【说明书核准日期及修改日期】核准日期：2015-1-18 修改日期：2018-7-20