

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】 Micro-50, Micro-100, Micro-200。

【主要组成成分】

规格 组分	Micro-50	Micro-100	Micro-200
微量离心柱	50 个/包×1	50 个/包×1	50 个/包×4
1.5ml 离心管	50 个/包×1	50 个/包×1	50 个/包×4
溶液 TR	55ml/瓶×1	55ml/瓶×1	55ml/瓶×4
溶液 W1A	9ml/瓶×1	18ml/瓶×1	18ml/瓶×2
溶液 RW2	6ml/瓶×1	12ml/瓶×1	24ml/瓶×1
RNase-free 水	5ml/瓶×1	5ml/瓶×1	5ml/瓶×2
说明书	1 份	1 份	1 份

【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】在产品缓冲液作用下，总 RNA 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 RNA。

【储存条件及有效期】溶液 TR 2~8℃避光保存。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：12 个月。

【适用仪器】小型冷冻高速离心机。

【样本要求】适用样本：人血液、血清、血浆、体液、组织、粪便及细胞。

【检验方法】

使用前说明

- 阅读说明书，备好试剂和仪器。
- 自备耗材及试剂：合适规格的非RNase离心管、三氯甲烷、无水乙醇、匀

浆器（提取组织RNA选用）、红细胞裂解液（选购，提取白细胞RNA使用，货号：H028）。盒中的 1.5ml 离心管专用于收集最后一步的RNA洗脱液。

- 使用并经常更换一次性手套。使用无 RNase 枪头避免污染。
- 首次使用前，分别向溶液W1A和RW2 瓶中按标签要求加入无水乙醇（自备），摇匀后标记备用。

操作步骤

1. 样品处理

注：由于不同样本及部位 RNA 含量可相差数倍，实验前查阅资料确定样本使用量。特殊样品（坚硬组织、富含胶原组织和富含 RNase 组织）需预处理：先将组织在液氮中用研钵快速研磨成粉末。取适量粉末移入匀浆器后立即加入溶液 TR 匀浆。勿在加入溶液 TR 前使组织融化。样本为细胞时，加入溶液 TR 前勿洗涤细胞以免降解 mRNA。如为低温保存样本，取出后立即处理，勿使材料融化。

1.1 组织及粪便：取 3~5mg组织移入匀浆器中，加 200μl溶液TR，充分匀浆。将匀浆全部移入离心管中，至步骤“2”。

注：可按需要调整组织用量及溶液 TR 用量，比例为每 5mg 组织加入 200μl 溶液 TR。溶液 TR 用量大于 700μl 时步骤“7”中需多次过柱。

1.2 贴壁细胞：弃去全部培养液。每 1cm²面积加入 100μl溶液TR，用枪头吸打充分混匀。将液体全部移入离心管中，至步骤“2”。

1.3 细胞悬液：离心取细胞。向 1×10⁶个细胞中加入 200μl溶液TR。漩涡混匀或用移液器吸打至液体不再粘稠(提高得率，重要)。将液体全部移入离心管中，至步骤“2”。

1.4 血液、血清、血浆及体液：取 150μl样品（不足 150μl时按 150μl计算）于离心管中，加入 450μl溶液TR，剧烈振摇混匀 30sec。至步骤“2”。

1.5 白细胞：取 1ml血液于 15ml离心管中，加 10 倍体积的红细胞裂解液，充分混匀，室温放置 5min。1000×g离心 5min。弃去全部上清液。向细胞沉淀中加入约沉淀 10 倍体积的溶液TR，用移液器吸打混匀。至步骤“2”。

2. 室温放置5min，使样品充分裂解。然后12000×g离心10min。取上清于新的

离心管中。

注：处理富含脂肪组织时，离心后需将液体上漂浮的脂肪层移弃。

- 加入溶液TR用量1/5体积的三氯甲烷（即每使用200 μ l溶液TR需加入40 μ l三氯甲烷）。剧烈振摇混匀15sec，室温放置5min。
- 4 $^{\circ}$ C12000 \times g离心15min。将上层水相（白色中间层上的澄清部分，注意勿吸入中间层）移入合适规格的离心管（离心管容积至少为水相体积的3倍）中并计算水相体积。

注：离心时温度大于8 $^{\circ}$ C时会有部分DNA混入水相。
- 向管中加入水相等体积的无水乙醇，充分混匀。

注：如需提取的RNA中包含小片段RNA如miRNA，需加入水相1.5倍体积的无水乙醇。如仅需小片段RNA如miRNA，订购miRNA提取盒。
- 将混匀液（如有沉淀一并移入）移入套有收集管的微量离心柱中，8000 \times g离心2min。弃去收集管中废液，将离心柱放回。

注：如未能将混匀液一次全部移入，重复上述操作使剩余液体全部过柱。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。
- 向柱中加入200 μ l溶液W1A，8000 \times g离心1min。
- 再向柱中加入200 μ l溶液W1A，8000 \times g离心1min。弃废液，将离心柱放回。
- 向柱中加入200 μ l溶液RW2，8000 \times g离心1min。
- 再向柱中加入200 μ l溶液RW2，8000 \times g离心1min。弃废液，将离心柱放回。
- 12000 \times g离心2min。
- 将离心柱从收集管中取出，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RNase-free水5~20 μ l，室温放置2~3min。12000 \times g离心1min。总RNA收集到1.5ml离心管中。

注：为提高得率，可向柱中央再加入5~20 μ l RNase-free 水，室温放置后离心收集 RNA 溶液，注意这会增大溶液体积并降低 RNA 浓度。也可将离心收集的溶液重新加回柱膜中央后室温放置 2min，12000 \times 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！吸取 RNA 溶液用于后续分析时，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，可能造成某些检测仪器堵塞。

【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 $^{\circ}$ C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。溶液 TR 含有苯酚。在与皮肤接触及吞咽有毒，可导致烧伤。与皮肤接触后，应立即用洗涤剂和大量水冲洗。如感到身体不适，及时就医。

※离心柱、离心管为一次性产品。用后废弃物按医疗垃圾处理。

【标识的解释】 min~分钟 sec~秒钟 g~相对离心力单位

【参考文献】无

【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 20150183 号

【说明书核准日期及修改日期】核准日期：2018-7-20