

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
1.5ml 离心管	1×50 个/包	2×50 个/包	4×50 个/包
mini 离心柱	1×50 个/包	2×50 个/包	4×50 个/包
溶液 ST	1×15ml/瓶	1×30ml/瓶	1×60ml/瓶
溶液 GH	1×15ml/瓶	1×30ml/瓶	1×60ml/瓶
溶液 W1	1×20ml/瓶	1×40ml/瓶	1×80ml/瓶
溶液 W2	1×12ml/瓶	1×24ml/瓶	1×48ml/瓶
溶液 TE	1×12ml/瓶	2×12ml/瓶	4×12ml/瓶
玻璃珠	1×15g/瓶	1×15g/瓶	1×30g/瓶
Proteinase K	1 管	2 管	3 管
RNaseA	1 管	2 管	3 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、粪便及其它临床样本。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, 熟悉操作步骤。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RNaseA管首次使用前各用 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 300µl, 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 250µl 溶液 ST, 最高转速涡旋振荡 5~10min。

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

- 4、向管中加入 250μl 溶液 GH 及 250μl 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 mini 离心柱中。12000×g 离心 1min。取出离心柱后弃去收集管中废液，将离心柱放回收集管中。
- 6、向柱中加入 550μl 溶液 W1，12000×g 离心 1min。弃废液，将离心柱放回。
- 7、向柱中加入 550μl 溶液 W2，12000×g 离心 30sec。弃废液，将离心柱放回。
- 8、重复步骤“7”一次。
- 9、最高转速（12000 ×g 以上）离心 2min。
- 10、将离心柱取出后放入 1.5ml 离心管中。向柱膜中央加入 50~100μl 溶液 TE。室温放置 2~3min。12000×g 离心 1min，DNA 溶液收集在离心管中。

注 1): 为提高得率,可向柱中再加入 50~100μl 溶液 TE,室温放置后离心收集、合并 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 mini 柱中 gDNA 的回收率（供参考）。

加入溶液 TE 体积		50μl	100μl	200μl
回收率	步骤“10”洗脱后	59 % (50μl)	74% (100μl)	78% (200μl)
	向柱中再加入溶液 TE 洗脱后	82% (100μl)	87% (200μl)	92% (400μl)
	将步骤“10”收集的 DNA 溶液重新加回柱中再次洗脱后	72% (50μl)	82% (100μl)	87% (200μl)

*括号内为收集的 DNA 溶液总体积。

注 2) 可选用纯水（自备）进行洗脱。纯水 pH 值不低于 7，且 DNA 产物应于 -20℃ 保存以防降解。

【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】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