

# 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。

【主要组成成分】

组分 \ 规格	10次/盒
中量离心柱	10个/包×1
mini离心柱	10个/包×1
1.5ml离心管	10个/包×1
溶液 TR	55ml/瓶×2
溶液 W1A	9ml/瓶×1
溶液 RW2	6ml/瓶×1
RNase-free 水	5ml/瓶×1
说明书	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，miRNA从样本中快速释放，吸附于高性能固相基质，洗脱后获得高纯度miRNA。

【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】冷冻高速离心机，真空抽滤装置。

【样本要求】适用样本：人血液、血清和血浆、组织及细胞。

【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：合适规格的无RNase离心管、三氯甲烷、无水乙醇。
- 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，摇匀后标记备用。
- 注意！步骤“6”与步骤“8”中使用不同规格离心柱，勿混用。
- 盒中的1.5ml离心管专用于收集最后一步中的miRNA洗脱液。

操作步骤

1. 样品均质化：

1.1 血液、血清和血浆：取1~3ml样品于离心管中，加入3倍体积的溶液TR，剧烈振摇混匀30sec。

1.2 组织：每300~500mg组织加入10ml溶液TR，用匀浆仪做匀浆处理。

注意！组织体积不应超过溶液TR体积的十分之一。

1.3 细胞悬液（少于 $1 \times 10^8$ 个细胞）：500×g离心5min。弃上清，向细胞中加入10ml溶液TR，漩涡混匀或用移液器吸打混匀。

1.4 贴壁培养细胞（少于 $1 \times 10^8$ 个细胞）：直接向培养板中加入溶液TR裂解细胞。每10cm<sup>2</sup>培养面积加入1ml溶液TR，移液器吸打混匀。

2. 将均质化样品室温放置5min。然后12000×g离心10min。取上清于新的离心管中。

3. 加入溶液TR用量1/5体积的三氯甲烷。剧烈振摇混匀15sec，室温放置3min。

4. 4℃ 12000×g离心15min。将上层水相（白色中间层上的透明部分，注意勿吸入中间层）移入离心管中并计算其体积。

5. 全血、血清或血浆按步骤“5a”进行，其它样本按步骤“5b”进行。

5a: 向管中加入水相1/3体积的无水乙醇，充分混匀。至下一步。

5b: 向管中加入水相0.4倍体积的无水乙醇，充分混匀。至下一步。

6. 将不多于6ml的混匀液移入套有收集管的微量离心柱中，6000×g离心2min。  
弃去离心柱，保留收集管中的液体，至下一步。  
注：如未能将混匀液一次全部移入，移出并保留收集管中的液体，重复上述操作使剩余液体全部过柱，合并过柱后液体，至下一步。
7. 全血、血清和血浆按步骤“7a”进行，其它样本按步骤“7b”进行。  
7a：向液体中添加步骤“5”水相7/6倍体积的无水乙醇，充分混匀。至下一步。  
7b：向液体中添加步骤“5”水相1.1倍体积的无水乙醇，充分混匀。至下一步。  
注：如加乙醇混匀后出现沉淀，12000×g离心2min，取上清液。至下一步。
- 8、除去mini离心柱外套的收集管（不可丢弃！后续步骤要用）。将扩容管细头插入mini离心柱中，再将离心柱尖头向下插入真空抽气装置中。
- 9、开启真空泵。将步骤“8”液体移入扩容管中，使液体全部通过。关闭真空泵。  
注 1：扩容管容积为 4.5ml，若液体多于 4.5ml 时需分多次加入。  
注 2：由于部分扩容管与 mini 离心柱不能紧密接合，先开启真空泵后再向扩容管中移入液体可有效避免液体从接合处漏出。
- 10、弃去扩容管，将离心柱放回收集管中。向柱中加入 500µl 溶液 W1A，12000×g 离心 1min。弃去收集管中废液，将离心柱放回。
- 11、再向离心柱中加入 500µl 溶液 W1A，8000×g 离心 1min。弃去废液，将离心柱放回。
- 12、向柱中加入 500µl 溶液 W2，12000×g 离心 30sec。弃废液，将离心柱放回。
- 13、重复步骤“12”一次。
- 14、最高转速（12000×g 以上）离心 2min。
- 15、将离心柱取出后放入新的1.5ml离心管中。向柱膜中央加入20~50µl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：为提高得率，可向柱中央再加入 20~50µl 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×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。

【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】

※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，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