

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。

【主要组成成分】

组分 \ 规格	50 次/盒	100 次/盒
mini 离心柱	50 个/包×1	50 个/包×2
微量离心柱	50 个/包×1	50 个/包×2
1.5ml 离心管	50 个/包×1	50 个/包×2
溶液 TR	55ml/瓶×1	55ml/瓶×2
溶液 W1A	9ml/瓶×1	18ml/瓶×1
溶液 RW2	6ml/瓶×1	12ml/瓶×1
RNase-free 水	5ml/瓶×1	5ml/瓶×1
说明书	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，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】小型冷冻高速离心机。

【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 200μl 样品于离心管中，加入 600μl 溶液 TR，剧烈振摇混匀 30sec。

1.2 组织：每 30~50mg 组织加入 1ml 溶液 TR，用匀浆仪充分匀浆。

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 1×10^7 个细胞）：500×g 离心 5min。弃上清，向细胞中加入 1ml 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 1×10^7 个细胞）：直接向培养板中加入溶液 TR 裂解细胞。每 10cm² 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 200μl 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。至步骤“6”。

5b: 向管中加入水相 0.4 倍体积的无水乙醇，充分混匀。至步骤“6”。

6. 将不多于700 μ l的混匀液移入套有收集管的mini离心柱中，12000 \times g离心1min。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”水相体积7/6倍的无水乙醇，充分混匀。至步骤“8”。

7b: 向液体中添加步骤“5”水相体积1.1倍的无水乙醇，充分混匀。至步骤“8”。

注：如加乙醇混匀后出现沉淀，12000 \times g离心2min，取上清液至步骤“8”。

8. 将不多于650 μ l的液体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，将离心柱放回收集管中。

注：如未能将液体一次全部移入，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。

9. 向离心柱中加入200 μ l溶液W1A，8000 \times g离心1min。

10. 再向离心柱中加入200 μ l溶液W1A，8000 \times g离心1min。弃去废液，将离心柱放回。

11. 向离心柱中加入200 μ l溶液RW2，8000 \times g离心1min。

12. 向离心柱中加入200 μ l溶液RW2，8000 \times g离心1min。弃去废液，将离心柱放回。

13. 12000 \times g离心2 min。

14. 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5~20 μ l RNase-free水，室温放置2~3min，12000 \times g离心1min。miRNA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. 精密性：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，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