

### 【产品名称】

通用名：核酸提取或纯化试剂

产品编号：R6672/R6672B

### 【包装规格】

72 人份/盒，版本号：JY

### 【预期用途】

本试剂盒适用于从多种临床样本（包括血清和血浆）中提取总核酸。试剂盒基于超顺磁性的磁性粒子纯化技术，提取过程中无需使用有毒的酚氯仿抽提，提取过程只需 30min。得到的 DNA/RNA 可直接用于荧光定量 PCR，PCR、生物芯片分析、二代测序等相关实验。

### 【检验原理】

本试剂盒基于高结合力的磁性粒子的纯化方式。样品在裂解液和蛋白酶 K 作用下裂解消化，DNA/RNA 释放到裂解液中，DNA/RNA 会吸附在磁性粒子的表面，而蛋白质等杂质则不被吸附而去除。吸附了 DNA/RNA 的粒子经洗涤液洗涤去除蛋白质和杂质，经乙醇液洗涤去除盐分；最后 DNA 被洗脱液 AVE 或灭菌水洗脱。

### 【样本要求】

1. 样本的采集、运输及保存符合相关操作规范。
2. 血浆或血清为稻草黄色澄清液体无异物。
3. 枸橼酸钠或 EDTA 抗凝血从采血时开始计算，在 2-8℃ 条件下可保存 5 天。若保存时间超过 5 天，抗凝血液、血浆、血清在 -20℃ 条件下保存 1 个月以上。避免反复冻融。抗凝血液无明显的凝血块。

### 【成份】

产品编号	R6672-01	R6672-01B
纯化次数	72 人份	72 人份
磁珠液 MB	3.5 ml	3.5 ml
蛋白酶 K	80 mg	80 mg
蛋白酶溶解液	5 ml	5 ml
消化液 ATL	60 ml	60 ml
消化液 SDS(20%)	8 ml	8 ml
结合液 MLB	100 ml	100 ml
洗涤液 MW1*	44 ml	44 ml
洗涤液 MW2*	20 ml	20 ml
洗脱液 AVE	20 ml	20 ml
2ml 研磨管	-	72

### 【储存条件及有效期】

试剂盒室温下运输，收到产品后把蛋白酶 K 和磁珠液 MB 保存于 2~8℃，溶解后的蛋白酶 K 须保存于 -20℃，其余组份在室温或 2~8℃ 保存，有效期为 18 个月。

### 【准备工作】

- 溶解蛋白酶 K: 加入 4.0ml 蛋白酶溶解液至蛋白酶 K 干粉中，颠倒混匀 10~15 次让蛋白酶 K 充分溶解，保存于 -20℃。
- 按标签所示，加入适量无水乙醇至洗涤液 MW1 和洗涤液 MW2，室温保存。

## 【核酸手工抽提流程】

该方案采用手工操作流程，适合于从 500 $\mu$ l 血清和血浆样品中提取病原微生物总核酸。

### A: 液体样品

1. 在 2ml 匀浆管中，加入 40 $\mu$ l 蛋白酶 K。
2. 加入 0.5ml 液体样品至 2ml 研磨管中，颠倒混匀，再加入 50 $\mu$ l 消化液 SDS。颠倒混匀，在涡旋仪上涡旋 10 分钟。

若无 2ml 研磨管，加入 150mg 玻璃粉(0.1~0.2mm)和 150mg 玻璃珠(0.4~0.6mm)。

3. 取出样品，55~60 度温育 10 分钟。10,000  $\times$  g 离心 3 分钟。
4. 转移 500 $\mu$ l 消化液至新的离心管中，按第 6 步进行操作。

### B: 组织样品

1. 在 1.5ml 离心管中，加入~10mg 组织块样品，并用剪刀尽量剪碎。
2. 加入 500 $\mu$ l 消化液 ATL 和 40 $\mu$ l 蛋白酶 K 至样品中，55 度消化 30~60 分钟或直至样品充分消化。
3. 转移消化液于 2ml 研磨管中，在涡旋仪上涡旋 10 分钟裂解微生物。

若无 2ml 研磨管，加入 150mg 玻璃粉(0.1~0.2mm)和 150mg 玻璃珠(0.4~0.6mm)。

4. 10,000  $\times$  g 离心 3 分钟。
5. 转移 500 $\mu$ l 消化液至新的离心管中，按第 6 步进行操作。

### C: 组织和液体样品的富集提取

1. 取 50~100mg 组织，用 1.0ml 生理盐水进行充分匀浆，静置 1 分钟，转移 0.4ml 上清至 2.0ml 离心管中。处理全血或其它液体样品时，取 0.4ml 至 2ml 离心管中。
2. 加入 1.2ml Buffer CLB(另外订购)至样品中，颠倒混匀，室温放置 10 分钟裂解细胞。13,000  $\times$  g 离心 10 分钟收集微生物，小心吸弃所有上清液。
3. 加入 100 $\mu$ l DNase Buffer 和 10 $\mu$ l DNase Mixture(另外订购)至沉淀，重悬后静置 20 分钟消化细胞 DNA。

4. 加入 400 $\mu$ l 消化液 ATL 和 40 $\mu$ l 蛋白酶 K 至样品中，55 度消化 20 分钟。
5. 转移消化液于 2ml 研磨管中，在涡旋仪上涡旋 10 分钟裂解微生物。10,000  $\times$  g 离心 3 分钟。转移 500 $\mu$ l 消化液至新的离心管中，按第 6 步进行操作。

若无 2ml 研磨管，加入 150mg 玻璃粉(0.1~0.2mm)和 150mg 玻璃珠(0.4~0.6mm)。

### 纯化操作

6. 加入 1ml 结合液 MLB 和 40 $\mu$ l 磁珠液 MB，室温颠倒混匀 10~15 分钟。
7. 转移至磁力架上，静置 6 分钟吸附磁珠。吸弃所有溶液。
8. **加入 500 $\mu$ l 洗涤液 MW1，涡旋混匀 15 秒。**
9. 转移至磁力架上，静置 2 分钟吸附磁珠。小心吸弃所有溶液。
10. **加入 500 $\mu$ l 洗涤液 MW2，涡旋混匀 15 秒。**
11. 转移至磁力架上，静置 2 分钟吸附磁珠。小心吸弃所有溶液。
12. 重复第 10~11 步一次。
13. 短暂离心，收集管壁上的液滴，转移至磁力架上，小心吸弃所有溶液。空气干燥 3 分钟。
14. **加 50 $\mu$ l 洗脱液 AVE 或灭菌水等缓冲液，涡旋打散磁珠。**室温放置 5~10 分钟，其间轻轻振荡 1~2 次加速溶解。
15. 转移至磁力架上，静置 3 分钟。转移 DNA 溶液至新的 1.5ml 离心管中。

### 【注意事项】

1. 本品仅用于体外诊断。
2. 实验前请仔细阅读本说明书。
3. 实验前请将试剂盒结合液 MLB 和洗涤液 MW1 和 MW2 平衡至室温 (15-25 $^{\circ}$ C)。
4. 为了避免样本中任何潜在的生物危险，检测样品应视为具有传染性物质，避免接触到皮肤和粘膜。标本操作和处理均需符合相关法规要求：卫生部《微生物生物医学实验室生物安全通用准则》和《医疗废物管理条例》。
5. 所用过的吸头请打入盛有消毒剂的容器，并与废弃物一起灭菌后方可丢弃。