

**【产品名称】**

通用名：核酸提取或纯化试剂

产品编号：R6673

**【包装规格】**

20 份/盒， 100 次/盒

**【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/RNA 被 Buffer AE 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°C 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°C 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	R6673-01	R6673-02
纯化次数	20 次	100 次
Glass Beads (0.1-0.6mm)	15 g	60 g
MagPure Particles G	1.0 ml	4.5 ml
Proteinase K	24 mg	96 mg
Protease Dissolve Buffer	1.8 ml	5 ml
Buffer CLB	30 ml	120 ml
Buffer ATL	10 ml	40 ml
DNase Buffer	6 ml	30 ml
DNase I	600ul	2 x 600ul
Buffer MLB	20 ml	80 ml
Buffer MW1 *	13 ml	44 ml
Buffer MW2 *	10 ml	50 ml
Nuclease Free Water	30 ml	100 ml

**【储存条件及有效期】**

试剂盒室温下运输，收到产品后把 Proteinase K 和 MagPure Particles G 保存于 2~8°C，溶解后的 Proteinase K 须保存于 -20°C，其余组份在室温或 2~8°C 保存，有效期为 18 个月。

**【准备工作】**

- **溶解 Proteinase K:** 加入 1.2/4.8ml Protease Dissolve Buffer 至 Proteinase K 干粉中，颠倒混匀 10~15 次让 Proteinase K 充分溶解，保存于 -20°C。
- 按标签所示，加入适量无水乙醇至 Buffer MW1 和 Buffer MW2，室温保存。

## 【核酸手工抽提流程】

### 1. 按以下方式进行前处理：

**抗凝血液：**转移 1.0~1.2ml 全血至 2ml 离心管中，2,000 × g 离心 10 分钟，转移血浆至新的离心管中，用于病毒总核酸和游离 DNA 制备。下层部分用于微生物核酸富集提取。

**大体积的血浆/腹水样品：**取 1.5-5ml 血浆/腹水/积液样品至 2-5ml 离心管中，13,000 × g 离心 10 分钟收集微生物和细胞。转移全部上清液至新的离心管中，备用，用于病毒总核酸和游离 DNA 制备。沉淀部分用于微生物核酸富集提取。

**组织样品：**取 50-100mg 组织样品，用 1ml 生理盐水或 Buffer PBS 进行充分匀浆，于 13,000 × g 离心 10 分钟收集微生物和细胞。转移全部上清液至新的离心管中，备用，用于病毒总核酸制备。沉淀部分用于微生物核酸富集提取。

**痰液：**取适量的痰液，加入适量的生理盐水或 Buffer PBS，剧烈涡旋样品，于 2,000 × g 离心 10 分钟，转移~0.5ml 上清用于病毒总核酸提取。余下部分用于微生物 DNA 富集提取。加入适量的 DTT 至余下的部分样品中进行液化，充分液化后，于 13,000 × g 离心 10 分钟收集微生物和细胞。

- 加入 1ml Buffer CLB 至沉淀中，涡旋打散沉淀，室温放置 10 分钟裂解真核细胞。13,000 × g 离心 10 分钟收集微生物，小心吸弃上清液。
- 加入 450µl Nuclease Free Water 至沉淀中，涡旋重悬样品。
- 加入 50µl DNase Buffer 和 10µl DNase I 至重悬液中，室温放置 30 分钟消化细胞 DNA 和 RNA。13,000 × g 离心 10 分钟收集微生物，小心吸弃上清液[上清含宿主细胞 DNA 片段]。
- 加入 200µl Buffer ATL 和~200mg 混合玻璃珠 (0.1-0.6mm)至样品中，于涡旋仪上高速涡旋 10 分钟裂解微生物，短暂离心。
- 在 2ml 离心管中，加入 20µl Proteinase K，200µl 血浆等病毒上清（第 1 步保留的上清）和 200µl 微生物裂解液（第 5 步）。
- 加入 40µl MagPure Particle G 和 700µl Buffer MLB 至样品中，颠倒混匀 10 分钟。
- 转移至磁力架上，静置 3 分钟吸附磁珠。吸弃所有溶液。
- 加入 900µl Buffer MW1，涡旋混匀 15 秒。转移至磁力架上，静置 1 分钟吸附磁珠。小心吸弃所有溶液。
- 加入 900µl Buffer MW2，涡旋混匀 15 秒。转移至磁力架上，静置 2 分钟吸附磁珠。小

心吸弃所有溶液。

- 重复第 10 步一次。
- 短暂离心，收集管壁上液滴，转移至磁力架上，小心吸弃所有溶液。55 度干燥 5 分钟。
- 加 70µl Nuclease Free Water 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。
- 转移至磁力架上，静置 3 分钟。转移 DNA/RNA 溶液至新的 1.5ml 离心管中。

## 附加方案(总核酸提取)

- 在 2ml 离心管中，~500mg 混合玻璃珠(0.1-0.6mm)，加入 300µl 样品和 300µl Buffer ATL，涡旋混匀 10 分钟。
- 转移 400µl 消化液至新的离心管中，加入 20µl Proteinase K，40µl MagPure Particle G 和 700µl Buffer MLB，颠倒混匀 10 分钟。
- 按第 8-14 步进行操作。

## 【注意事项】

- 本品仅用于体外诊断。
- 实验前请仔细阅读本说明书。
- 实验前请将试剂盒裂解液 MLB 和洗涤液 MW1 和 MW2 平衡至室温 (15-25℃)。
- 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》。
- 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。