

【产品名称】

通用名称：核酸提取或纯化试剂

商用名称：柱法石蜡 DNA 提取试剂盒

【包装规格】

100 人份 (货号 IVD3126)

【预期用途】

本产品适用于从各种临床样本（血液、组织、脱落细胞、FFPE 样品）中提取高纯度的 DNA，提取产物可用于临床体外检测使用。

【检验原理】

本产品基于硅胶柱纯化方式。样品在消化液 ATL 和蛋白酶 K 作用下裂解消化，DNA 释放到裂解液中。加入变性液 AL 和乙醇后，转移至柱子中过滤，DNA 被吸附上柱子的膜上，而蛋白质则不被吸附而随溶液滤出去除。柱子经洗涤液 GW1 洗涤蛋白质和其它杂质，经洗涤液 GW2 洗涤去除盐分，最后 DNA 被低盐缓冲液(10Mm Tris, pH8.5)洗脱。洗脱的 DNA 可直接用于 PCR、Southern blot、病毒检测等实验。

【主要组成成份】

货号	IVD3126	主要成分
DNA 吸附柱	100	纯化柱
收集管	200	塑料管
蛋白酶 K	50 mg	重组蛋白酶 K
RNase A	20 mg	牛胰核糖核酸酶
蛋白酶溶解液	6 ml	甘油/Tris/CaCl ₂
脱蜡液 DPS	80 ml	烷烃混合物
消化液 ATL	30 ml	Tris/EDTA/SDS
变性液 AL	30 ml	NaAc/Tween-20/盐酸胍
洗涤液 GW1	26 ml	盐酸胍
洗涤液 GW2	50 ml	Tris/NaCl
洗脱液 EB	30 ml	10Mm Tris,pH8.5

【储存条件及有效期】

本产品室温下运输，收到产品后，把蛋白酶 K 和 RNase A 保存于-20-8℃。其它组份保存于室温，有效期 18 个月。

【准备工作】

- 溶解蛋白酶 K: 加入 2.5ml 蛋白酶溶解液至瓶子中，溶解后保存于-20~8℃。
- 溶解 RNase A: 加入 1.3ml 蛋白酶溶解液至瓶子中，溶解后保存于-20~8℃。
- 使用前，洗涤液 GW1/洗涤液 GW2 按标签所示，加入适量的无水乙醇进行稀释。

第一部分：样品裂解和消化

A. 组织切片(简易方案)

1. 用手术刀去除多余石蜡，切取数个(<5 片)切片并转移至 1.5~2.0ml 离心管中。
2. 加入 650μl 脱蜡液 DPS，56℃ 水浴 6 分钟，立即涡旋 15 秒让石蜡充分溶解。
3. 13,000 x g 离心 1 分钟让组织沉淀到管底。
4. 加入 200μl 消化液 ATL 至管底，缓慢吸打几次重悬组织。
5. 加入 20μl 蛋白酶 K 至下层溶液中，吸打 1-3 次，56℃ 温育 60 分钟。90℃ 温育 60 分钟。
【56℃ 温育过夜时，可以省略或缩短 90℃ 温育时间至 30 分钟，以减少 DNA 降解】
6. 13,000 x g 离心 1 分钟，转移下层消化液到新的离心管中。
7. 加入 10μl RNase A 至样品中，混匀，室温放置~10 分钟，
8. 加入 200μl 变性液 AL 至样品中，涡旋混匀 10 秒。
9. 加入 200μl 无水乙醇，涡旋混匀 15 秒。按第二部分进行操作。

B. 组织切片(标准方案)

1. 用手术刀去除多余石蜡，切取数个(<8 片)切片并转移至 1.5~2.0ml 离心管中。
2. 加入 650μl 脱蜡液 DPS，颠倒混匀让切片完全浸泡于脱蜡液 DPS 中，56℃ 水浴 5 分钟，立即涡旋混匀 15 秒让石蜡充分溶解。
3. 13,000 x g 离心 3 分钟，小心吸弃脱蜡液，残留少量的液体不影响提取。若这一步石蜡去除不充分，重复第 2-3 步。
4. 加入 200μl 消化液 ATL 和 20μl 蛋白酶 K，涡旋 10~15 秒，56℃ 温育 60 分钟或过夜，90℃ 温育 60 分钟。
【56℃ 温育过夜时，可以省略或缩短 90℃ 温育时间至 30 分钟，以减少 DNA 降解】
5. 加入 10μl RNase A 至样品中，混匀，室温放置 10 分钟，
6. 加入 200μl 变性液 AL 至样品中，涡旋混匀 10 秒。
7. 加入 200μl 无水乙醇，高速涡旋混匀 10 秒。按第二部分进行操作。

C. 组织(<10mg)

1. 把不超过 10mg 组织转移至 1.5ml 离心管中。加入 200 μ l 消化液 ATL 和 20 μ l 蛋白酶 K。55 $^{\circ}$ C 振荡温浴 60~120 分钟或直至样品完全消化(可以过夜)。
2. 加入 10 μ l RNase A 至样品中, 混匀, 室温放置~10 分钟,
3. (可选)若消化液浑浊或有颗粒物, 10,000 \times g 离心 3 分钟。转移上清液至新的 1.5ml 离心管中。
4. 加入 200 μ l 变性液 AL 至样品中, 涡旋混匀 10 秒, 70 $^{\circ}$ C 温浴 10 分钟。
5. 加入 200 μ l 无水乙醇至样品中, 涡旋混匀 10 秒, 按第二部分进行操作。

D. 抗凝血液(200 μ l)

1. 在 1.5ml 离心管中, 加入 20 μ l 蛋白酶 K。
2. 转移 200 μ l 抗凝血液、血清、血浆等样品至装有蛋白酶 K 管子中。
3. 加入 200 μ l 变性液 AL 至样品中, 颠倒混匀 3~5 次。70 $^{\circ}$ C 振荡(~900rpm)温育 10 分钟。
4. 加入 200 μ l 无水乙醇至样品中, 涡旋 10 秒。按第二部分进行操作。

E. 培养或脱落细胞

1. 1,600~2,500 \times g 离心 10 分钟收集培养或脱落细胞 (<2 \times 10⁶), 小心吸尽溶液。
2. 加入 200 μ l Buffer PBS 或洗脱液 AE 和 20 μ l 蛋白酶 K 至样品中。涡旋 5 秒打散细胞。
3. 加入 10 μ l RNase A 至样品混匀, 室温放置~10 分钟,
4. 加入 200 μ l 变性液 AL 至样品中, 颠倒混匀 3~5 次, 65 $^{\circ}$ C 振荡(~900rpm)温浴 15 分钟。
5. 加入 200 μ l 无水乙醇, 涡旋混匀 15 秒。按第二部分进行操作。

第二部分: 过柱纯化

6. 把 DNA 吸附柱装在收集管中。转移<750 μ l 混合液(包括沉淀)至柱子中。10,000 \times g 离心 1 分钟。
7. (混合液超过 750 μ l) 倒弃滤液, 把柱子重新装回收集管中。转移剩余的混合液(包括沉淀)至柱子中。10,000 \times g 离心 1 分钟。
8. 弃去废液和收集管。把柱子装在新的收集管中。加入 500 μ l 洗涤液 GW1(已用乙醇稀释)至柱子上。10,000 \times g 离心 1 分钟。
9. 倒弃滤液, 把柱子重新装回收集管中。加入 650 μ l 洗涤液 GW2(已用乙醇稀释)至柱子中。10,000 \times g 离心 1 分钟。
10. 倒弃流出液, 把柱子重新装回收集管中。10,000 \times g 离心 2 分钟。
11. 将柱子装在新的 1.5ml 离心管中。加入 20~100 μ l 预热至 70 $^{\circ}$ C 洗脱液 EB 至柱子的膜中央。放

置 3 分钟, 10,000 \times g 离心 1 分钟。

12. 丢弃 DNA 结合柱, 把 DNA 保存于 2~8 $^{\circ}$ C, 长期保存需保存于-20 $^{\circ}$ C。

【产品的局限性】

样品提取效率与操作者是否严格按照说明书操作有关。

【产品性能指标】

1. 外观检查: 试剂盒应组份完全, 包装外观清洁、无泄漏、无破损; 标志、标签字迹清楚。
2. 核酸纯度: 按说明书提取 5mg 肝脏, 检测 DNA 产物时, OD₂₆₀/OD₂₈₀ 值在 1.6-2.0, A₂₆₀/A₂₃₀ 在 1.4-1.9, 且 CV 值小于 10%。
3. 核酸产量: 根据说明书提取 5mg 肝脏时, 检测 DNA 产物时, 核酸产量在 5~15 μ g, 且 CV 值小于 15%。

【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. 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《微生物医学实验室生物安全通用准则》和《医疗废物管理条例》。
4. 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。

【备案信息】

备案人/生产企业名称: 广州美基生物科技有限公司

住所: 广州市黄埔区联浦街 16 号 502 房

生产地址: 广州市黄埔区联浦街 16 号 502 房

售后服务单位: 广州美基生物科技有限公司

电话: 020-89857862

传真: 020-89857862

生产备案凭证编号: 粤穗食药监械生产备 20160033 号 备案号: 粤穗械备 20150062 号