

**【产品名称】**

通用名称: 核酸提取或纯化试剂 商用名称: 柱法粪便 DNA 提取试剂盒

**【包装规格】**

50 人份 (货号 IVD3141)

**【预期用途】**

本产品适用于从粪便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	IVD3141-20	IVD3141	主要成分
DNA 吸附柱(DNA Mini Column II)	20	50	纯化柱
收集管 (2ml Collection Tubes)	20	50	塑料管
2ml 研磨管	20	50	重组蛋白酶 K
消化液 SPL	20 ml	60 ml	牛胰核糖核酸酶
去蛋白液 PCI	20 ml	50 ml	烷烃混合物
变性液 AL	10 ml	30 ml	Tris/EDTA/SDS
洗涤液 GW1*	13 ml	13 ml	Tween-20/盐酸胍
洗涤液 GW2*	10 ml	20 ml	盐酸胍
RNase A	10 mg	10 mg	Tris/NaCl
蛋白酶 K	12 mg	24 mg	10Mm Tris,pH8.5
蛋白酶溶解液	1.8 ml	5 ml	5 ml
洗脱液 AE	15 ml	15 ml	15 ml

**【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°C。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 0.6ml/1.2ml 蛋白酶溶解液至瓶子中, 溶解后保存于-20~8°C。
- 溶解 RNase A: 加入 0.6ml 蛋白酶溶解液至瓶子中, 溶解后保存于-20~8°C。
- 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。
- 吸取液体粪便时, 把 1ml 移液枪头的头部剪去小部分, 以方便转移样品。处理富含纤维的动物粪便样品(牛羊等), 样品量控制在 70~100mg, 处理水份极少的动物粪便(如老鼠粪便), 样品量为 50~60mg。

**第一部分: 微生物总 DNA 提取**

1. 在 2ml 匀浆管中, 加入 0.1~0.2mg 粪便、0.2ml 粪便悬液, 加入 600µl 消化液 SPL 和 600µl 去蛋白液 PCI。转移在涡旋仪涡旋 10 分钟, 或转移至珠磨仪上珠磨 60~90 秒。
  - 这一步涡旋混匀时, 推荐使用 MagMix A 涡旋仪 (货号 MM-01), 该仪器可同时处理 24 个样品。
  - 处理干拭子/固体组织样品时, 把样品直接转移至匀浆管中, 然后补加入 500µl PBS 或生理盐水。
  - 处理其它体液样品时, 在 2ml 匀浆管中, 加入 0.4ml 体液样品, 加入 200µl 消化液 SPL 和 600µl 去蛋白液 PCI, 转移在涡旋仪涡旋 10 分钟, 或转移至珠磨仪上珠磨 60~90 秒。
2. 取下匀浆管, 65°C 温育 15 分钟, 14,000 × g 离心 10 分钟。
3. 转移 500µl 上清液至 2ml 离心管中, 加入 10µl RNase A, 混匀, 室温静置 15 分钟。
4. 加入 20µl 蛋白酶 K 和 500µl 变性液 AL 至上清液, 颠倒混匀, 65°C 消化 10 分钟。
5. 加入 500µl 无水乙醇至样品中, 涡旋 10 秒。
6. 把吸附柱装在 2ml 收集管中。转移一半体积混合液至柱子中。10,000 × g 离心 30~60 秒。
7. 倒弃滤液把柱子装回收集管中。把剩余混合液转移至柱子中。10,000 × g 离心 30~60 秒。
8. 倒弃滤液把柱子装回收集管。加入 500µl 洗涤液 GW1 至柱子上。10,000 × g 离心 30~60 秒。
  - 洗涤液 GW1 须用无水乙醇稀释。按瓶子标签或说明书指示进行稀释。

9. 倒弃滤液把柱子装回收集管。加入 650 $\mu$ l 洗涤液 GW2 至柱子中。10,000  $\times$  g 离心 30~60 秒。
  - 洗涤液 GW2 须用无水乙醇稀释。按瓶子标签或说明书指示进行稀释。
10. 倒弃滤液把柱子装回收集管。加入 650 $\mu$ l 洗涤液 GW2 至柱子中。10,000  $\times$  g 离心 30~60 秒。
11. 倒弃滤液把柱子装回收集管中。13,000  $\times$  g 离心 2 分钟甩干柱子。
12. 将柱子装在 1.5ml 离心管中。加入 30~100 $\mu$ l 预热至 65 $^{\circ}$ C 的洗脱液 AE 或灭菌水至柱子的膜中央，室温放置 2 分钟。13,000  $\times$  g 离心 1 分钟。
13. 丢弃 DNA 结合柱。把 DNA 保存 2-8 $^{\circ}$ C，长期保存需保存于-20 $^{\circ}$ C。

## 第二部分：人源 DNA 提取

1. 在 2ml 匀浆管中，加入 0.1~0.2mg 粪便、0.2ml 粪便悬液，加入 600 $\mu$ l 消化液 SPL 和 600 $\mu$ l 去蛋白液 PCI。转移在涡旋仪涡旋 2~3 分钟。
  - 这一步涡旋混匀时，推荐使用 MagMix A 涡旋仪 (货号 MM-01)，该仪器可同时处理 24 个样品。
  - 处理干拭子/固体组织样品时，把样品直接转移至匀浆管中，然后补加入 500 $\mu$ l PBS 或生理盐水。
  - 处理其它体液样品时，在 2ml 匀浆管中，加入 0.4ml 体液样品，加入 200 $\mu$ l 消化液 SPL 和 600 $\mu$ l 去蛋白液 PCI，转移在涡旋仪涡旋 10 分钟，或转移至珠磨仪上珠磨 60~90 秒。
2. 14,000  $\times$  g 离心 10 分钟。
3. 转移 500 $\mu$ l 上清至 2ml 离心管中，加入 20 $\mu$ l 蛋白酶 K 和 500 $\mu$ l 变性液 AL，颠倒混匀，65 $^{\circ}$ C 消化 15 分钟。
4. 加入 500 $\mu$ l 无水乙醇至混合液，涡旋混匀 150 秒。
5. 把吸附柱装在 2ml 收集管中。转移一半体积混合液至柱子中。10,000  $\times$  g 离心 30~60 秒。
6. 倒弃滤液把柱子装回收集管中。把剩余混合液转移至柱子中。10,000  $\times$  g 离心 30~60 秒。
7. 倒弃滤液把柱子装回收集管。加入 500 $\mu$ l 洗涤液 GW1 至柱子上。10,000  $\times$  g 离心 30~60 秒。
  - 洗涤液 GW1 须用无水乙醇稀释。按瓶子标签或说明书指示进行稀释。
8. 倒弃滤液把柱子装回收集管。加入 650 $\mu$ l 洗涤液 GW2 至柱子中。10,000  $\times$  g 离心 30~60 秒。
  - 洗涤液 GW2 须用无水乙醇稀释。按瓶子标签或说明书指示进行稀释。
9. 倒弃滤液把柱子装回收集管。加入 650 $\mu$ l 洗涤液 GW2 至柱子中。10,000  $\times$  g 离心 30~60 秒。
10. 倒弃滤液把柱子装回收集管中。13,000  $\times$  g 离心 2 分钟甩干柱子。
11. 将柱子装在 1.5ml 离心管中。加入 30~100 $\mu$ l 预热至 65 $^{\circ}$ C 的洗脱液 AE 或灭菌水至柱子的膜中央，室温放置 2 分钟。13,000  $\times$  g 离心 1 分钟。
14. 丢弃 DNA 结合柱。把 DNA 保存 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，OD<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub> 值在 1.7-2.0, A<sub>260</sub>/A<sub>230</sub> 在 1.2-1.8，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 10~13 $\mu$ 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