



核酸提取试剂 说明书

【产品名称】

核酸提取试剂

【包装规格】

10次/盒；50次/盒

【预期用途】

用于核酸的提取、富集步骤。其处理后的产物用于临床体外检测使用。产品组成中不含可与样本特异性结合的抗原、抗体、探针成分。

【检验原理】

通过裂解血清或者血浆细胞，将游离核酸特异地结合到硅基质膜上，其他杂质流过该膜，获得游离DNA。通过两次高效洗涤完全去除蛋白质等杂质，然后用洗脱液洗脱高纯度的游离核酸。

【主要组成成分】

试剂名称	10次/盒		50次/盒	
	规格	数量	规格	数量
裂解缓冲液1	45 mL/瓶	1瓶	220 mL/瓶	1瓶
裂解缓冲液2	15 mL/瓶	1瓶	60 mL/瓶	1瓶
结合缓冲液（浓缩液）	60 mL/瓶	1瓶	300 mL/瓶	1瓶
漂洗缓冲液1（浓缩液）	3 mL/瓶	1瓶	13 mL/瓶	1瓶
漂洗缓冲液2（浓缩液）	3 mL/瓶	1瓶	15 mL/瓶	1瓶
洗脱缓冲液	2 mL/瓶	1瓶	10 mL/瓶	1瓶
蛋白酶K	100 mg/支	1支	180 mg/瓶	3瓶
蛋白酶K保存液	5 mL/支	1支	30 mL/瓶	1瓶
吸附柱	10 个/包	1包	50 个/包	1包
收集管	10 个/包	1包	50 个/包	1包
延伸管	10 个/包	1包	10 个/包	5包
连接管	10 个/包	1包	50 个/包	1包

需要实验者自行准备的试剂：异丙醇、无水乙醇、PBS溶液。

【储存条件及有效期】

吸附柱2-8℃保存，其余组分0-35℃保存，有效期12个月。

可在0-40℃运输，运输时间建议不超过7天。

【样本要求】

1. 适用标本类型：新鲜或冷冻的血清、血浆、淋巴液、尿液等无细胞体液；游离DNA保存管或尿液样本保存管保存的样本。
2. 标本处理与保存：样本应避免反复冻融，否则影响提取的得率和质量。
3. 样本运输：新鲜或冷冻的样本应采用冰壶或者泡沫箱加冰或干冰密封运输。使用cfDNA保存管或尿液样本保存管保存的样本，参照保存管的运输要求。

【检验方法】

实验前准备：向蛋白酶K中加入适量的蛋白酶K保存液使其溶解，使其终浓度为20 mg/mL，-20℃保存。

1. 血清、血浆样本（1-5 mL）

1.1 样品处理：

向离心管（自备）中加入1 mL血清/血浆样本，若样本不足1 mL，加入PBS溶液补至1 mL体积。

注意：当样品量超过1 mL时，请等比例增加蛋白酶K、裂解缓冲液1和结合缓冲液试剂用量，具体试剂加入量可参考附表1。

1.2 向以上溶液中加入100 μL蛋白酶K，混匀。

1.3 加入800 μL 裂解缓冲液1，剧烈震荡至少30秒。

1.4 60℃孵育30分钟，其间颠倒混匀数次。

1.5 加入1800 μL结合缓冲液（使用前检查是否加入异丙醇），颠倒混匀10次或剧烈震荡15-30秒。

1.6 冰浴5分钟。

1.7 按图示正确连接负压装置，将连接管插到负压装置的插口上。

1.8 将吸附柱插入到连接管上。

1.9 将延伸管插入到开盖的吸附柱中。

注意：确保连接管、吸附柱和延伸管连接稳固，防止发生漏液。

1.10 将冰浴后的混合溶液全部加入延伸管中，开启并调节负压至-900~-800 mbar，缓慢吸走管中溶液。待溶液完全吸走，关闭负压开关，当压力恢复至0 mbar时，小心移去延伸管。

1.11 向吸附柱中加入500 μL漂洗缓冲液1（使用前检查是否加入无水乙醇），开启并调节负压至-900~-800 mbar，待溶液完全吸走，关闭负压开关。

1.12 向吸附柱中加入750 μL 漂洗缓冲液2（使用前检查是否加入无水乙醇），开启并调节负压至-900~-800 mbar，待溶液完全吸走，关闭负压开关。

1.13 向吸附柱中加入750 μL无水乙醇，开启并调节负压至-800~-900 mbar，待溶液完全吸走，关闭负压开关。

1.14 当压力恢复至0 mbar时，将吸附柱取下，置于新的收集管中，12,000 rpm离心3分钟，倒掉收集管中的废液。将吸附柱置于室温数分钟，以彻底晾干。

注意：这一步的目的是将吸附柱中残余的乙醇去除，乙醇的残留会影响后续的酶促反应。

1.15 将吸附柱置于新的1.5 mL收集管中，向吸附柱的中间部位悬空加入20-150 μL 洗脱缓冲液，室温放置3分钟，12,000 rpm离心1分钟，收集DNA溶液，-20℃保存DNA。

2. 尿液样本 (1-4mL)

2.1 样品处理:

向离心管 (自备) 中加入1mL 尿液样本。若样本不足1 mL, 加入PBS溶液补至1 mL体积。

注意: 当样品量超过1mL时, 请等比例增加蛋白酶K、裂解缓冲液1、裂解缓冲液2和结合缓冲液试剂用量, 具体试剂加入量可参考附表2。

2.2 向以上溶液中加入125 μ L 蛋白酶K, 混匀。

2.3 加入1 mL 裂解缓冲液1、250 μ L 裂解缓冲液2, 剧烈震荡至少30秒。

2.4 60°C孵育30分钟, 其间颠倒混匀数次。

2.5 加入3.6 mL 结合缓冲液 (使用前检查是否加入异丙醇), 剧烈震荡15-30秒。

2.6 冰浴5分钟。

2.7 正确连接负压装置, 将连接管插到负压装置的插口上。

2.8 将吸附柱插入到连接管上。

2.9 将延伸管插入到开盖的吸附柱中。

注意: 确保连接管、吸附柱和延伸管连接稳固, 防止发生漏液。

2.10 将冰浴后的混合溶液全部加入延伸管中, 开启并调节负压至-900~-800 mbar, 缓慢吸走管中溶液。待溶液完全吸走, 关闭负压开关, 当压力恢复至0 mbar时, 小心移去延伸管。

2.11 向吸附柱中加入500 μ L 漂洗缓冲液1 (使用前检查是否加入无水乙醇), 开启并调节负压至-900~-800 mbar, 待溶液完全吸走, 关闭负压开关。

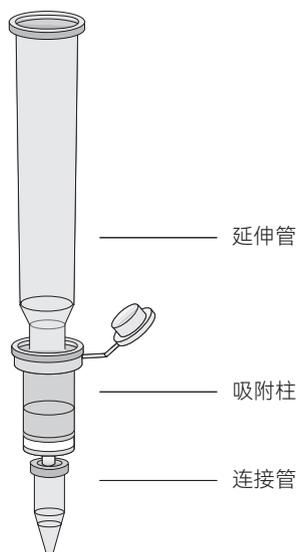
2.12 向吸附柱中加入750 μ L 漂洗缓冲液2 (使用前检查是否加入无水乙醇), 开启并调节负压至-900~-800 mbar, 待溶液完全吸走, 关闭负压开关。

2.13 向吸附柱中加入750 μ L无水乙醇, 开启并调节负压至-900~-800 mbar, 待溶液完全吸走, 关闭负压开关。

2.14 当压力恢复至0 mbar时, 将吸附柱取下, 置于新的收集管中, 12,000 rpm离心3分钟, 倒掉收集管中的废液。将吸附柱置于室温数分钟, 以彻底晾干。

注意: 这一步的目的是将吸附柱中残余的乙醇去除, 乙醇的残留会影响后续的酶促反应。

2.15 将吸附柱置于新的1.5mL收集管中, 向吸附柱的中间部位悬空加入20-150 μ L 洗脱缓冲液, 室温放置3分钟, 12,000 rpm离心1分钟, 收集DNA溶液, -20°C保存DNA。



延伸管、吸附柱、连接管连接示意图

附表1: 不同血清/血浆样本量推荐加入试剂量

试剂加入量 \ 样本体积	1 mL	2 mL	3 mL	4 mL	5 mL
蛋白酶K	100 μ L	200 μ L	300 μ L	400 μ L	500 μ L
裂解缓冲液1	800 μ L	1600 μ L	2400 μ L	3200 μ L	4000 μ L
结合缓冲液	1800 μ L	3600 μ L	5400 μ L	7200 μ L	9000 μ L

附表2: 不同尿液样本量推荐加入试剂量

试剂加入量 \ 样本体积	1 mL	2 mL	3 mL	4 mL
蛋白酶K	125 μ L	250 μ L	375 μ L	500 μ L
裂解缓冲液1	1 mL	2 mL	3 mL	4 mL
裂解缓冲液2	250 μ L	500 μ L	750 μ L	1 mL
结合缓冲液	3.6 mL	5.4 mL	7.2 mL	9 mL

【注意事项】

1. 在试验前，应仔细阅读本说明。应由具备专业经验或经培训合格的人员进行操作。
2. 向蛋白酶K中加入适量的蛋白酶K保存液使其溶解，使其终浓度为20 mg/mL，-20℃保存。配制好的蛋白酶K勿长时间室温放置，以免影响其活性。
3. 本试剂盒最多可以从5 mL血清血浆、4 mL尿液中提取游离DNA。
4. 第一次使用前应按照试剂瓶标签的说明先在结合缓冲液（浓缩液）中加入异丙醇，混合均匀，并在试剂瓶标签上做好标记。
5. 第一次使用前应按照试剂瓶标签说明先在漂洗缓冲液1（浓缩液）和漂洗缓冲液2（浓缩液）中加入无水乙醇，混合均匀，并在试剂瓶标签上做好标记。
6. 使用前请检查裂解缓冲液1、裂解缓冲液2、结合缓冲液是否出现结晶或者沉淀，如有结晶或者沉淀，请将该缓冲液于56℃水浴孵育重新溶解。
7. 实验开始前将水浴锅预热至60℃。
8. 可将洗脱缓冲液预热至60℃。