版本号：03/2024

核酸提取或纯化试剂
说明书

【产品名称】

核酸提取或纯化试剂

【包装规格】

20次/盒；50次/盒；200次/盒

【预期用途】

用于核酸提取、富集、纯化步骤。其处理后的产物用于临床体外检测使用。

【检验原理】

本产品从血液或相关体液纯化基因组、线粒体或病毒DNA，样本裂解后，DNA特异性结合到吸附柱上，污染物流走。PCR抑制剂可通过两步有效的洗涤被完全去除，结合在吸附柱上的纯核酸可用水或试剂盒中的缓冲液洗脱，得到的DNA可用于RT-PCR、荧光定量PCR、酶切和Southern Blot等实验。

【主要组成成分】

	20次/盒		50次/盒		200次/盒	
试剂名称	规格	数量	规格	数量	规格	数量
裂解缓冲液	5 mL/瓶	1瓶	15 mL/瓶	1瓶	50 mL/瓶	1瓶
漂洗缓冲液1（浓缩液）	6 mL/瓶	1瓶	13 mL/瓶	1瓶	52 mL/瓶	1瓶
漂洗缓冲液2（浓缩液）	9 mL/瓶	1瓶	15 mL/瓶	1瓶	50 mL/瓶	1瓶
洗脱缓冲液	10 mL/瓶	1瓶	15 mL/瓶	1瓶	60 mL/瓶	1瓶
蛋白酶K	15 mg/支	1支	37.5 mg/支	1支	150 mg/支	1支
蛋白酶K保存液	1.25 mL/支	1支	1.25 mL/支	1支	5 mL/支	1支
吸附柱	20 个/包	1包	50 个/包	1包	50 个/包	4包
收集管	20 个/包	1包	50 个/包	1包	50 个/包	4包

需要实验者自行准备的试剂：无水乙醇（分析纯）。

【储存条件及有效期】

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：新鲜或冷冻的全血（用柠檬酸盐、EDTA或肝素等抗凝剂处理过的血液样品）、血浆、血清、血沉棕黄层、淋巴细胞、无细胞体液等样本。
2. 标本处理与保存：血清及血浆样本按常规方法制备，新鲜样本应尽快处理或分装后于-70℃冻存，避免反复冻融。
3. 样本运输：应采用冰壶或者泡沫箱加冰或干冰密封运输。

【检验方法】

实验前准备

向蛋白酶K中加入指定用量的蛋白酶K保存液使其溶解，-20℃保存。

	20次/盒	50次/盒	200次/盒
蛋白酶K保存液	加入0.5 mL	加入1.25 mL	加入5 mL

1. 向离心管（自备）中加入200 μL血液样本。
2. 向以上溶液中加入20 μL蛋白酶K溶液，混匀。
3. 加入200 μL裂解缓冲液，颠倒混匀15次，剧烈震荡至少1分钟。

   注意：不要将蛋白酶K直接加入到裂解缓冲液中。
4. 56℃孵育10分钟，其间颠倒混匀数次。

   注意：孵育10分钟DNA的产量已经达到最大，继续延长孵育时间对DNA产量和纯度没有影响。
5. 加入200 μL无水乙醇，颠倒混匀10次。短暂离心，使管壁和壁盖上的液体集中到管底。
6. 将步骤5所得溶液全部加入到已装入收集管的吸附柱中，若一次不能加完溶液，可分多次转入。10,000rpm离心1分钟，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。
7. 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），10,000 rpm离心1 分钟，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。
8. 向吸附柱中加入500 μL漂洗缓冲液2（使用前检查是否加入无水乙醇），10,000rpm离心1分钟，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。

   注意：如需进一步提高DNA纯度，可重复步骤8。
9. 10,000 rpm离心2分钟，倒掉收集管中的废液。将吸附柱置于室温数分钟，以彻底晾干吸附柱中残余的乙醇。

   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（酶切、PCR等）。
10. 将吸附柱置于一个新的离心管（自备）中，向吸附柱的中间部位悬空加入50-200 μL洗脱缓冲液或灭菌水，室温放置2-5分钟，10,000 rpm离心1分钟，收集DNA溶液，-20℃保存DNA。

    注意：1）如果下游实验对pH值或EDTA敏感，可以用灭菌水洗脱。洗脱液的pH值对洗脱效率有很大影响，若用水做洗脱液应保证其pH值在7.0-8.5（可以用氢氧化钠将水的pH值调到此范围），pH值低于7.0时洗脱效率不高。

    2）离心之前室温孵育5分钟可以增加产量。

    3）用另外的50-200μL洗脱缓冲液或灭菌水再次洗脱可以增加产量。

    4）如果要提高DNA的终浓度，可以将步骤10所得的DNA洗脱液重新加至吸附膜上，10,000 rpm离心1分钟；若洗脱体积小于200μL，可以增加DNA的终浓度，但可能会减少总产量。如果DNA的量小于1 μg，推荐用50 μL洗脱缓冲液或灭菌水洗脱。

    5）因为保存在水中的DNA会受到酸性水解作用的影响，如需长期保存，推荐用洗脱缓冲液洗脱并于-20℃保存。

【注意事项】

1. 配制好的蛋白酶K勿长时间室温放置，避免反复冻融，以免影响其活性。
2. 样本应避免反复冻融，否则会导致提取的DNA片段较小且提取量也下降。
3. 第一次使用前应按照试剂瓶标签说明在漂洗缓冲液1（浓缩液）和漂洗缓冲液2（浓缩液）中加入无水乙醇。
4. 使用前请检查裂解缓冲液是否出现结晶或者沉淀，如有结晶或者沉淀，请将裂解缓冲液于56℃水浴孵育重新溶解。
5. 如下游实验对RNA污染较敏感，可加入4 μL无DNA酶的RNase A（100 mg/mL）。