



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】

型号一：48次/盒； 型号二：24次/盒

【预期用途】

用于核酸的提取、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】

本试剂盒提供了一种简单、快速、高效的从1-10 mL的血浆、尿液、血清、羊水等体液中纯化回收DNA的方法。高盐时，DNA结合于硅基包被的磁珠表面。漂洗后，DNA洗脱于去离子水中。DNA的得率与样品类型、储存条件、时间以及个体间差异有很大关系。纯化得到的DNA质量稳定、可靠，可用于定量PCR、产前诊断等下游实验。

【主要组成成分】

型号一：瓶装型

试剂名称	48次/盒	
	规格	数量
裂解缓冲液1	120 mL/瓶	1瓶
裂解缓冲液2	6 mL/瓶	1瓶
漂洗缓冲液1（浓缩液）	80 mL/瓶	1瓶
漂洗缓冲液2（浓缩液）	40 mL/瓶	1瓶
洗脱缓冲液	30 mL/瓶	1瓶
蛋白酶K	1.25 mL	2支
磁珠悬浮液	1 mL/支	2支

型号二：24通道预装板型

试剂名称	24次/盒	
	规格	数量
样本板	1块	1
漂洗板1	1块	1
漂洗板2	1块	1
漂洗板3	1块	1
漂洗板4	1块	1
洗脱板	1块	1
磁套板	1块	1
蛋白酶K	1.25 mL	2支
裂解缓冲液2	6 mL/瓶	1瓶
裂解缓冲液1	120 mL/瓶	1瓶
磁珠悬浮液	1 mL/支	2支

需要实验者自行准备的试剂：

无水乙醇（分析纯）、异丙醇。

【储存条件及有效期】

磁珠悬浮液2-8度储存，其它组分4-30℃保存，有效期12个月。

可在4-37℃运输，运输时间建议不超过7天。

【样本要求】

1. 适用样本类型：血浆、血清、羊水、尿液等体液。
2. 样本处理与保存：样本应尽快于-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。

【自备仪器、试剂】

型号一：瓶装型

1. 手动单管提取：
 - 1) 恒温混匀仪——货号：CW2593或其它同等功能的仪器
 - 2) 2/15 mL磁力架——货号：CW2594
 - 3) 异丙醇，无水乙醇
2. 与康为CWE240全自动核酸提取仪的匹配：
 - 1) 康为CWE240全自动核酸提取仪
 - 2) 异丙醇，无水乙醇
 - 3) 24孔深孔板和深孔磁套——货号：CW3066S

型号二：24通道预装板型

与康为世纪CWE240全自动核酸提取仪的匹配：

- 1) 康为世纪CWE240全自动核酸提取仪
- 2) 异丙醇

【实验前准备】

1. 漂洗缓冲液1的配制：向漂洗缓冲液1（浓缩液）中加入104 mL无水乙醇。
2. 漂洗缓冲液2的配制：向漂洗缓冲液2（浓缩液）中加入160 mL无水乙醇。

【检验方法】

型号一：瓶装型

实验前准备：

- 1) 漂洗缓冲液1的配制：向漂洗缓冲液1（浓缩液）中加入104mL无水乙醇。
 - 2) 漂洗缓冲液2的配制：向漂洗缓冲液2（浓缩液）中加入160mL无水乙醇。
1. 手动单管检测（以2 mL血浆或尿液为例）
 - 1.1 按下表向离心管中依次加入30 μ L蛋白酶K溶液、2 mL血浆或尿液、100 μ L裂解缓冲液2，放于60 $^{\circ}$ C、1200rpm恒温混匀仪上震荡20分钟，孵育结束后将离心管冰浴5-10分钟。

注：如无恒温混匀仪，将离心管涡旋震荡10秒钟后放于60 $^{\circ}$ C水浴锅中孵育20分钟，期间每隔7分钟涡旋震荡10秒钟。

为避免蛋白酶K失活，请按下表试剂顺序依次加入，请勿将裂解缓冲液2直接加到蛋白酶K溶液中。

	血浆或尿液体积			
	1 mL	2 mL	4 mL	10 mL
蛋白酶K溶液	15 μ L	30 μ L	60 μ L	150 μ L
血浆或尿液样本	1 mL	2 mL	4 mL	10 mL
裂解缓冲液 2	50 μ L	100 μ L	200 μ L	500 μ L
总体积	1.065 mL	2.13 mL	4.26 mL	10.65 mL

1.2 孵育过程中，按下表准备裂解液/磁珠混合液，并混合均匀。

	血浆或尿液样本			
	1 mL	2 mL	4 mL	10 mL
裂解缓冲液 1	1 mL	2 mL	4 mL	10 mL
异丙醇	0.25 mL	0.5 mL	1 mL	2.5 mL
磁珠悬浮液	15 μ L	30 μ L	60 μ L	150 μ L
总体积	1.265 mL	2.53 mL	5.06 mL	12.65 mL

- 1.3 将步骤1.2中准备的裂解液/磁珠混合液加到步骤1.1样本管中。涡旋震荡1分钟，然后手工上下颠倒或使用混匀仪混匀5-10分钟，使磁珠一直处于悬浮状态。
- 1.4 将离心管放于磁力架上静置，待磁珠吸附到磁力架上，管内溶液变澄清后，翻转离心管冲洗瓶盖上残留磁珠，再放置1分钟左右，之后弃去溶液。
- 1.5 向离心管中加入1 mL漂洗缓冲液1（使用前请检查是否已加入无水乙醇），震荡混匀后将混悬液转移到新的1.5 mL离心管中。
- 1.6 将离心管固定于磁力架上静置1分钟，之后弃去溶液。
- 1.7 向离心管中加入1 mL漂洗缓冲液1（使用前请检查是否已加入无水乙醇），涡旋震荡5秒钟后放于25 $^{\circ}$ C、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡结合2分钟。
- 1.8 将离心管固定于磁力架上静置1分钟，之后弃去溶液。
- 1.9 向离心管中加入1 mL漂洗缓冲液2（使用前请检查是否已加入无水乙醇），涡旋震荡5秒钟后放于25 $^{\circ}$ C、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡结合2分钟。
- 1.10 将离心管固定于磁力架上静置1分钟，之后弃去溶液。
- 1.11 重复步骤1.9-1.10。
- 1.12 离心管短暂离心后，将其重新固定于磁力架上用移液器去除管底溶液，开盖室温放置5-10分钟使乙醇充分挥发。

1.13 向离心管中加入50-100 μL 洗脱缓冲液后涡旋震荡使磁珠充分悬浮于洗脱液中，之后将离心管固定于25 $^{\circ}\text{C}$ 、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡洗脱10分钟。

1.14 将离心管固定于磁力架上静置2分钟，待磁珠完全吸附于离心管侧壁后用移液器将洗脱液转移至新的离心管中-20 \pm 5 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

2. 与CWE240匹配（以2 mL血浆或尿液为例）

产品与CWE240匹配后可一次性从1-24份体液样本中提取游离DNA。

2.1 按下表向24孔深孔板中加入试剂：

位置	试剂及用量
深孔板1	蛋白酶K: 30 μL 血浆或尿液样本: 2 mL 裂解缓冲液2: 100 μL
深孔板 2	漂洗缓冲液 1: 1 mL
深孔板 3	漂洗缓冲液 1: 1 mL
深孔板 4	漂洗缓冲液 2: 1 mL
深孔板 5	漂洗缓冲液 2: 1 mL
深孔板 6	洗脱缓冲液: 50-100 μL

2.2 24孔深孔磁套与24孔深孔板放入CWE240核酸提取仪的相应位置中，运行“CWY052_CWE240程序”。

2.3 约23分钟后仪器暂停，将“深孔板1”拿出仪器后立即放到冰上5-10分钟，然后向“深孔板1”每个孔中加入2 mL 裂解缓冲液1、0.5 mL异丙醇和30 μL 磁珠悬浮液。

2.4 将深孔板1放回仪器中，继续运行程序。约45分钟后程序运行结束。把“深孔板6”中的游离DNA洗脱产物转移至离心管中-20 \pm 5 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

型号二：24通道预装板型（以2 mL血浆或尿液为例）

1 将预装板从试剂盒中取出放入水平离心机中300 g离心10秒钟。

2 将预装板从离心机中取出，小心去除热封膜，期间防止深孔板震动。

3. 向样本板每孔中加入30 μL 蛋白酶K溶液，2 mL血浆或尿液样本，随后加入100 μL 裂解缓冲液2。

4. 将磁套板置于样本板中。

5. 按照下表将预装板放入提取仪相应位置上。

名称	CWE240位置
样本板和磁套板	1
漂洗板1	2
漂洗板2	3
漂洗板3	4
漂洗板4	5
洗脱板	6

- 运行CWY052程序。待程序暂停后，取出样本板，将样本板冰浴5-10分钟，冰浴后向样本板每孔中加入2 mL裂解缓冲液1、0.5 mL异丙醇和30 μ L磁珠悬浮液，之后将样本板置于板位1。
- 程序运行结束后，取出磁套板和深孔板。将洗脱板中的产物转移至1.5 mL离心管中-20 \pm 5 $^{\circ}$ C保存。

【注意事项】

型号一：瓶装型

- 在实验前，应仔细阅读本说明书。
- 磁珠悬浮液严禁冰冻、离心。冰冻、离心可能会对磁珠造成不可逆的损害。
- 磁珠悬浮液使用前需涡旋震荡20秒使其充分混匀。
- 第一次使用前应按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）中加入无水乙醇并做好标记。
- 使用前请检查裂解缓冲液1和裂解缓冲液2中是否出现结晶或沉淀，如有结晶或沉淀，请将裂解缓冲液1和裂解缓冲液2于56 $^{\circ}$ C水浴重新溶解。
- 实验过程中，磁珠在溶液中的充分混匀对于提取的得率与纯度都有很大的影响。实验过程中务必使磁珠与溶液充分混匀。不同厂家生产的恒温混匀仪震荡混匀效果有一定差异，实验过程中请注意观察磁珠状态。如出现磁珠贴壁等未充分混匀的现象，请用移液器吹吸混匀或调整震荡频率。
- 检验方法中涉及到的CWY052_CWE240程序由康为世纪另行提供。
- 实验过程注意佩戴口罩，手套及实验服，实验中产生的废液应收集，按照医疗企业废液标准处理。

型号二：24通道预装板型

1. 在实验前，应仔细阅读本说明书。
2. 第一次使用前应按照试剂瓶标签的说明预先在漂洗缓冲液（浓缩液）中加入无水乙醇。
3. 24孔预装板严禁冰冻、高速离心。冰冻、高速离心可能会对磁珠造成不可逆的损害。
4. 实验过程注意佩戴口罩，手套及实验服，实验中产生的废液应收集，按照医疗企业废液标准处理。