



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】

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】

通过裂解血清或者血浆细胞，将游离核酸特异性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	50次/盒		200次/盒	
	规格	数量	规格	数量
裂解缓冲液1	25 mL/瓶	1瓶	120 mL/瓶	1瓶
裂解缓冲液2	25 mL/瓶	1瓶	120 mL/瓶	1瓶
漂洗缓冲液1（浓缩液）	13 mL/瓶	1瓶	52 mL/瓶	1瓶
漂洗缓冲液2（浓缩液）	15 mL/瓶	1瓶	75 mL/瓶	1瓶
洗脱缓冲液	15 mL/瓶	1瓶	60 mL/瓶	1瓶
蛋白酶K	25 mg/支	1支	90 mg/瓶	1瓶
蛋白酶K保存液	1.25 mL/支	1支	5 mL/瓶	1瓶
吸附柱	50 个/包	1包	50 个/包	4包
收集管	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。

【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：新鲜或干燥的口腔拭子。
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：常温运输。

【检验方法】

实验前准备：将全部蛋白酶K保存液加入到蛋白酶K中使其溶解，-20℃保存。

1. 将口腔拭子的棉签用剪刀从杆上剪下，置于2 mL的离心管（自备）中，加入400 μ L裂解缓冲液1。

注意：如需无RNA污染的基因组DNA，可加入4 μ L浓度为100 mg/mL的RNA酶A溶液（康为货号：CW0601S），震荡混匀。

2. 加入20 μ L蛋白酶K和400 μ L裂解缓冲液2，立即涡旋震荡15秒，充分混匀。
3. 3. 56℃放置10分钟，短暂离心，使管壁上的溶液收集到管底。

- 加入400 μ L无水乙醇，涡旋震荡充分混匀，短暂离心，使管壁上的溶液收集到管底。
注意：加入无水乙醇后可能会产生白色沉淀，不会影响后续实验。
- 将上步所得溶液和沉淀分两次加入到已装入收集管的吸附柱中，一次最多不超过700 μ L。12,000 rpm (\sim 13,400 \times g) 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。
- 向吸附柱中加入500 μ L 漂洗缓冲液1（使用前检查是否已加入无水乙醇），12,000 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。
- 向吸附柱中加入500 μ L 漂洗缓冲液2（使用前检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm离心3分钟，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。
- 12,000 rpm离心1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（酶切、PCR等）。
- 将吸附柱置于一个新的1.5 mL收集管中，向吸附柱的中间部位悬空加入50 μ L洗脱缓冲液或灭菌水，室温放置2-5分钟，12,000 rpm离心1分钟，收集DNA溶液， -20°C 保存。
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NaOH将水的pH值调到此范围），pH值低于7.0时洗脱效率不高。
2）若需长期保存，推荐用洗脱液洗脱并于 -20°C 保存。

【注意事项】

- 配制好的蛋白酶K溶液勿长时间室温放置，避免反复冻融，以免影响其活性。
- 样品应避免反复冻融，否则会导致提取的DNA片段较小且提取量下降。
- 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。
- 使用前请检查裂解缓冲液2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2于 56°C 水浴重新溶解。
- 如果下游实验对RNA污染比较敏感，可以在第3步中加入4 μ L无DNA酶的RNA酶A（100 mg/mL），RNA酶A本试剂盒并未提供，如需要可单独向本公司订购，货号CW0601。
- 取样：使用口腔拭子在口腔内壁擦拭6次，晾干2小时保存，为确保样本不被食物或饮料污染，取样前30分钟内请勿进食和饮水。