



# 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

## 【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】

本试剂盒使用专门优化的裂解液和蛋白酶K，释放福尔马林固定或组织切片样本中的RNA，无需过夜操作；消化后的样品在较高的温度孵育后，去除由福尔马林交联造成的抑制作用，有效释放组织切片中的RNA，而避免危害RNA的完整性；优化的缓冲系统使裂解液中的RNA可特异结合到硅胶吸附膜上，而其他污染物可流过膜；可通过漂洗步骤有效去除，经过洗脱的RNA可直接用于RT-PCR、Real-Time PCR和印迹分析等实验。

## 【主要组成成分】

试剂名称	20次/盒	
	规格	数量
裂解缓冲液1	15 mL/瓶	1瓶
裂解缓冲液2	25 mL/瓶	1瓶
漂洗缓冲液（浓缩液）	11 mL/瓶	1瓶
洗脱缓冲液	10 mL/瓶	1瓶
蛋白酶K	12.5 mg/支	1支
蛋白酶K保存液	1.25 mL/支	1支
吸附柱	50 个/包	1包
过滤柱	50 个/包	1包
收集管	50 个/包	1包

需要实验者自行准备的试剂：无水乙醇（新开封或提取RNA专用）、10 mM PBS（pH 7.4）、二甲苯。

## 【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：福尔马林固定、石蜡包埋组织。
2. 标本处理与保存：常温处理保存。
3. 样本运输：常温运输。

## 【检验方法】

### 实验前准备

向蛋白酶K中加入0.625 mL蛋白酶K保存液使其溶解，-20℃保存。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。

### 1. 样本处理：

1.1 石蜡包埋样本：用手术刀将组织块中多余的石蜡修剪掉，露出组织。

1.2 福尔马林等固定液中的样本：取约20 mg的样本，切成小块，置于离心管中，加入500  $\mu$ L 10 mM PBS (PH7.4) ,涡旋振荡，12,000 rpm (~13,400 $\times$ g) 离心1分钟，重复3次，可直接进行第7步操作。

2. 将组织块切成5-10  $\mu\text{m}$ 的薄片。  
**注意：如果样品表面已经暴露在空气中，请将接触空气的2-3片弃掉不用。**
3. 取约 $1 \times 1 \text{ cm}^2$ 的切片（共约4-5片切片）置于离心管（自备）中，加入1 mL二甲苯，盖紧管盖，涡旋震荡10秒。
4. 12,000 rpm离心2分钟，小心吸弃上清，注意不要吸弃沉淀。
5. 加入1 mL无水乙醇，涡旋震荡混匀。12,000 rpm离心2分钟，弃上清，注意不要吸弃沉淀。  
**注意：乙醇可以除去样品中残余的二甲苯。**
6. 打开管盖，室温或最高至 $37^\circ\text{C}$ 孵育10分钟，直至无水乙醇残留。
7. 加入150  $\mu\text{L}$ 裂解缓冲液1，重悬沉淀；加入10  $\mu\text{L}$ 蛋白酶K，涡旋震荡混匀。
8.  $56^\circ\text{C}$ 孵育15分钟，直至样品完全溶解。 $80^\circ\text{C}$ 孵育15分钟。短暂离心，使管壁上的溶液收集到管底。  
**注意：1) 此步骤的目的是修复由甲醛变性的核酸，孵育的温度过高或时间过长可能造成RNA断裂，产生RNA碎片。  
2)  $56^\circ\text{C}$ 孵育后的样品可置于室温，直至水浴锅或干浴锅温度达到 $80^\circ\text{C}$ 后再把样品置于 $80^\circ\text{C}$ 孵育。**
9. 加入320  $\mu\text{L}$ 裂解缓冲液2，涡旋震荡彻底混匀。
10. 将步骤9中所得到的溶液全部加入到已装入收集管的过滤柱中。12,000 rpm离心1分钟，收集滤液。
11. 在步骤10得到的滤液中，加入720  $\mu\text{L}$ 无水乙醇，涡旋震荡彻底混匀。  
**注意：加入无水乙醇后，可能有少量沉淀物析出，但不影响后续操作。**
12. 将步骤11中所得的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。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。
13. 向吸附柱中加入500  $\mu\text{L}$ 漂洗缓冲液（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。
14. 重复步骤13。
15. 12,000 rpm离心2分钟，倒掉收集管中废液。将吸附柱置于室温数分钟以彻底晾干。  
**注意：这一步目的是将吸附柱中残余乙醇去除，乙醇残留会影响后续酶促反应（酶切、PCR等）。**
16. 将吸附柱置于一个新的收集管中，向吸附柱的中间部位悬空加入20-50  $\mu\text{L}$ 洗脱缓冲液，室温放置2-5分钟，12,000 rpm离心1分钟，收集RNA溶液， $-20^\circ\text{C}$ 保存RNA。  
**注意：1) 洗脱缓冲液体积不应小于20  $\mu\text{L}$ ，体积过小影响回收率。  
2) 如果要提高RNA的产量，可用20-50  $\mu\text{L}$ 新的洗脱缓冲液重复步骤16。  
3) 如果要提高RNA浓度，可将得到的溶液重新加入到吸附柱中，重复步骤16。**

## 【注意事项】

1. 在试验前，应仔细阅读本说明书。
2. 获得样品后，要尽快将样品在4%-10%的福尔马林中固定，固定时间以14-24小时为宜，时间过长易导致RNA断裂，影响下游实验。
3. 确保包埋前的样品彻底脱水，残留的福尔马林会抑制蛋白酶K的作用。
4. 第一次使用前应按试剂瓶标签说明先在漂洗缓冲液（浓缩液）中加入无水乙醇。
5. 使用前请检查裂解缓冲液1和裂解缓冲液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1和裂解缓冲液2于56℃水浴重新溶解。