



# 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】

本试剂盒采用可以特异性结合核酸的离心吸附柱和独特的缓冲液系统，样品裂解后，游离DNA在高盐条件下与硅胶膜结合，在低盐、高pH值时游离DNA从硅胶膜上洗脱下来。本品可以处理0.1-1 mL的液体样本，配置的高效微量吸附柱洗脱体积可低至20  $\mu$ L。纯化的DNA产量高、质量好，最大限度去除蛋白、色素、脂类及其他抑制物，游离DNA得率与样品的类型，储存条件、时间以及个体间差异有很大关系。

## 【主要组成成分】

试剂名称	50次/盒	
	规格	数量
裂解缓冲液	45 mL/瓶	1瓶
结合缓冲液（浓缩液）	60 mL/瓶	1瓶
漂洗缓冲液1（浓缩液）	13 mL/瓶	1瓶
漂洗缓冲液2（浓缩液）	15 mL/瓶	1瓶
洗脱缓冲液	10 mL/瓶	1瓶
蛋白酶K	100 mg/支	1支
蛋白酶K保存液	5 mL/支	1支
吸附柱	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、异丙醇。

## 【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、淋巴液等无细胞体液。
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：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中加入适量的蛋白酶K保存液使其溶解，使其终浓度为20mg/mL，-20℃保存。

1. 向离心管（自备）中加入20 μL蛋白酶K溶液。
2. 加入200 μL血清/血浆样本。

**注意：**当样本量超过200 μL时，请等比例增加蛋白酶K溶液、裂解缓冲液和结合缓冲液的用量，具体试剂加入量可参考附表。

3. 加入160 μL 裂解缓冲液，颠倒混匀，剧烈震荡至少30秒。

4. 60°C孵育30分钟，其间颠倒混匀数次。

**注意：200 μL 血清/血浆样本60°C孵育10-15分钟即可。**

5. 加入360 μL结合缓冲液（使用前检查是否加入异丙醇），震荡至彻底混匀。

6. 冰浴5分钟，短暂离心，使管壁和壁盖上的液体集中到管底。

7. 将步骤6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。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。

8. 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），12,000 rpm离心30秒，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。

9. 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），12,000 rpm离心30秒，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。

10. 向吸附柱中加入750 μL无水乙醇，12,000 rpm离心30秒，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。

11. 12,000 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。

**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。**

12. 将吸附柱置于新的收集管中，向吸附柱的中间部位悬空加入20-100μL洗脱缓冲液，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DNA。

**注意：1) 将洗脱缓冲液预热至60°C后使用，且离心之前室温孵育5分钟，可以增加产量。**

**2) 如果要提高DNA的终浓度，可以将得到的溶液重新加入到吸附柱中，室温放置2-5分钟，12,000 rpm离心1分钟。**

附表：不同样本量推荐加入试剂量

样本体积 试剂加入量	200 μL	300 μL	600 μL	800 μL	1000 μL
裂解缓冲液	160 μL	240 μL	480 μL	640 μL	800 μL
结合缓冲液	360 μL	540 μL	1080 μL	1440 μL	1800 μL
蛋白酶K	20 μL	30 μL	60 μL	80 μL	100 μL

## 【注意事项】

1. 配制好的蛋白酶K勿长时间室温放置，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. 本试剂盒最多可以提取0.1-1 mL血清/血浆样本。
4. 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。
5. 第一次使用前应按试剂瓶标签说明先在结合缓冲液（浓缩液）中加入异丙醇。
6. 使用前请检查裂解缓冲液、结合缓冲液是否出现结晶或者沉淀，如有结晶或者沉淀，请将裂解缓冲液和结合缓冲液于56°C水浴孵育重新溶解。