

**【产品名称】**

通用名称：核酸提取或纯化试剂

商用名称：柱法游离 DNA 提取试剂盒

**【包装规格】**

50 人份 (货号 IVD3182), 版本: ACB2

**【预期用途】**

本产品适用于从血清/血浆/体液等样品中提取游离 DNA, 产物可用于临床体外检测使用。

**【检验原理】**

本产品基于硅胶柱纯化方式。样品在消化液 ACL 和蛋白酶 K 作用下裂解消化, DNA 释放到裂解液中。加入结合液 ACB2 后, 转移至柱子中过滤, DNA 被吸附上柱子的膜上, 而蛋白质则不被吸附而随溶液滤出去除。柱子经洗涤液 DCW1 洗涤蛋白质和其它杂质, 经洗涤液 DCW2 洗涤去除盐分, 最后 DNA 被低盐缓冲液洗脱。洗脱的 DNA 可直接用于 PCR、Southern blot、病毒检测等实验。

**【主要组成成份】**

货号	IVD3182-10,测试	IVD3182,版本 ACB2	主要成分
游离 DNA 吸附柱	10	50	纯化柱
收集管	20	50	塑料管
延长管(Extender Tube)	10	50	塑料管
接头(Vac-Connector)	10	50	塑料管
消化液 ACL	50 ml	250 ml	异硫氰酸胍
结合液 ACB2	60 ml	300 ml	异硫氰酸胍
洗涤液 DCW1*	22 ml	44 ml	盐酸胍
洗涤液 DCW2*	20 ml	20 ml	Tris/NaCl
蛋白酶 K	100 mg	540 mg	重组蛋白酶 K
蛋白酶溶解液	10 ml	30 ml	甘油/Tris/CaCl <sub>2</sub>
Carrier RNA	120 µg	120 µg	Poly A
洗脱液 NFW	10 ml	10 ml	10Mm Tris,pH8.5

**【储存条件及有效期】**

本产品在室温贮存时, 有效期 18 个月。

**【准备工作】**

- 溶解蛋白酶 K: 加入 5ml/27ml 蛋白酶溶解液至瓶子中, 溶解后保存于-20~8℃。
- 使用前, 洗涤液 DCW1 按标签所示, 加入 28ml/56ml 无水乙醇进行稀释。
- 使用前, 洗涤液 DCW2 按标签所示, 加入 80 ml 无水乙醇进行稀释。
- 使用前, 结合液 ACB2 按标签所示, 加入 40ml/200ml 异丙醇进行稀释。
- 溶解 Carrier RNA: 加入 0.5ml 洗脱液 NFW 至瓶子中, 振荡 3 分钟后保存于-20℃。
- 根据血浆/血清体积计算蛋白酶 K 和消化液 ACL 和结合液 ACB 的用量。

样品体积	1 ml	2 ml	3 ml	4 ml	5 ml
蛋白酶 K	100µl	200µl	300µl	400µl	500µl
消化液 ACL	0.8 ml	1.6 ml	2.4 ml	3.2 ml	4 ml
Carrier RNA	5 µl	5 µl	5 µl	5 µl	5 µl
结合液 ACB2	1.8 ml	3.6 ml	5.4 ml	7.2 ml	9 ml

使用前, Carrier RNA 与 Buffer ACL 预先混匀, 每个样品中 Carrier RNA 的用量为 1µg (5µl)。

**实验步骤**
**● 2ml 血清或血浆的前处理操作**

1. 转移 200µl 蛋白酶 K 至 10ml 离心管中。
2. 转移 2ml 血清、血浆或其它液体样品至装有 Proteinase K 离心管中, 混匀 5 秒。
3. 加入 1.6ml 消化液 ACL/Carrier RNA(5µl)至样品中, 颠倒混匀 3-5 次, 涡旋混匀 15 秒。60℃ 水浴 30 分钟, 其间颠倒 2-3 次。
4. 加入 3.6ml 结合液 ACB2 至样品中。颠倒混匀 10~15 次, 冰上放置 5 分钟。按第 5 步进行操作。

**● 5ml 血清或血浆的前处理操作**

1. 转移 500µl 蛋白酶 K 至 50ml 离心管中。

2. 转移 5ml 血清、血浆或其它液体样品至装有 Proteinase K 离心管中，混匀 5 秒。
3. 加入 4ml 消化液 ACL/Carrier RNA(5µl)至样品中，颠倒混匀 3-5 次，，涡旋混匀 15 秒。60℃ 水浴 30 分钟，其间颠倒 2-3 次。
4. 加入 9ml 结合液 ACB2 至样品中。颠倒混匀 10~15 次，冰上放置 5 分钟。按第 5 步进行操作。

● **10ml 尿液或腹水等低蛋白质含量样品**

1. 转移 500µl 蛋白酶 K 至 50ml 离心管中。
2. 转移 10ml 尿液、腹水、积液等低蛋白质含量样品至装有 Proteinase K 离心管中，混匀 5 秒。
3. 加入 10ml 消化液 ACL/Carrier RNA(5µl)至样品中，颠倒混匀 3-5 次，涡旋混匀 15 秒。60℃ 水浴 30 分钟，其间颠倒 2-3 次。
4. 加入 10ml 异丙醇至样品中，颠倒混匀 10~15 次，冰上放置 5 分钟。按第 5 步进行操作。

● **抽滤操作**

5. 把接头插到抽滤盒中，把 DNA 吸附柱和延长管套在一起，并插到接头中。
6. 把第四步获得的混合液倒入至 DNA 吸附柱子中。打开真空泵进行抽滤，抽滤完毕，关闭真空泵，让压力下降为零。[真空泵压力需要达到 0.6MPa 以下]

处理 2-3ml 样品时，抽滤时间为 8 分钟；处理 5ml 样品时，抽滤时间为 15-20 分钟；处理 10ml 低蛋白质含量样品时，抽滤时间为：~30 分钟。处理多个样品时，已过滤的柱子，先关闭对应的阀门防止抽干柱子产生结晶物。

7. 把延长管从柱子中取出并丢去。
8. 加入 900µl 洗涤液 DCW1 至柱子中，静置 1 分钟后，打开真空泵进行抽滤。抽滤完毕后关闭真空泵，让压力下降为零。
9. 加入 900µl 洗涤液 DCW2 至柱子中，打开真空泵进行抽滤。
10. 加入 900µl 无水乙醇至柱子中，打开真空泵进行抽滤。抽滤完毕后关闭真空泵，让压力下降为零。
11. 取下柱子套在 2ml 收集管中，13,000 × g 离心 2 分钟。
12. (可选)取出柱子，并打开盖子，放置于 56℃ 烘箱中干燥 10 分钟，或室温放置 30 分钟。
13. 把柱子装在新的离心管中，加入 50~60µl 洗脱液 NFW 或 Low TE (自备)至柱子的膜中央。放置 3 分钟。≥13,000 × g 离心 1 分钟。
14. 丢弃 DNA 结合柱，把 DNA 保存于 -20℃ 或 -80℃。

**【产品的局限性】**

样品提取效率与操作者是否严格按照说明书操作有关。

**【产品性能指标】**

1. 外观检查：试剂盒应组份完全，包装外观清洁、无泄漏、无破损；标志、标签字迹清楚。
2. 核酸回收率：按说明书处理 100ng DNA 样品时，DNA 回收率超过 80%，且 CV 值小于 10%。
3. 短片段回收率：按说明书处理 100bp DNA Marker 时，100bp DNA 片段要超过 80%。

**【注意事项】**

1. 本品仅用于体外诊断。
2. 实验前请仔细阅读本说明书。
3. 为了避免样本中任何潜在的生物危险，检测样品应视为具有传染性物质，避免接触到皮肤和粘膜。标本操作和处理均需符合相关法规要求：卫生部《微生物医学实验室生物安全通用准则》和《医疗废物管理条例》。
4. 所用过的吸头请打入盛有消毒剂的容器，并与废弃物一起灭菌后方可丢弃。

**【备案信息】**

备案人/生产企业名称：广州美基生物科技有限公司

住所：广州市黄埔区联浦街 16 号 502 房

生产地址：广州市黄埔区联浦街 16 号 502 房

售后服务单位：广州美基生物科技有限公司

电话：020-89857862

传真：020-89857862

生产备案凭证编号：粤穗食药监械生产备 20160033 号 备案号：粤穗械备 20150062 号

**【订购信息】**

为减少试剂浪费，多余的试剂可以另外订购耗材。

货号	IVD3182-50C	主要成分
游离 DNA 吸附柱	50	纯化柱
收集管	50	塑料管
延长管(Extender Tube)	50	塑料管
真空接头(Vac-Connector)	50	塑料管