

【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 份/盒 (货号 IVD3182, 抽滤方案), 50 份/盒 (货号 IVD3182D, 离心方案)

【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	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
消化液 ACL	220 ml	异硫氰酸胍
结合液 ACB2	300 ml	异硫氰酸胍
洗涤液 DCW1*	22 ml	盐酸胍
洗涤液 DCW2*	10 ml	Tris/NaCl
蛋白酶 K	540 mg	重组蛋白酶 K
蛋白酶溶解液	30 ml	甘油/Tris/CaCl ₂
Carrier RNA	110 µg	Poly A
洗脱液 EB	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 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/洗涤液 DCW2 按标签所示, 加入适量的无水乙醇进行稀释。
- 使用前, 结合液 ACB2 按标签所示, 加入适量的异丙醇进行稀释。
- 溶解 Carrier RNA: 加入 0.5 ml 洗脱液 EB 和 10µl 蛋白酶 K 至瓶子中, 振荡 3 分钟后保存于-20℃。

第一部分: 样品的消化和裂解

- 根据样品体积计算蛋白酶 K 和消化液 ACL 和结合液 ACB2 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	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg
结合液 ACB2	1.8 ml	3.6 ml	5.4 ml	7.2 ml	9 ml

- 转移适量的蛋白酶 K 至 10~50ml 离心管中。
- 转移 1~5ml 血清、血浆或其它液体样品至装有蛋白酶 K 离心管中, 混匀 5 秒。
- 加入 0.8~4ml 消化液 ACL/Carrier RNA(1µg)至样品中, 涡旋混匀 10 秒。60℃ 水浴 30 分钟, 其间偶尔颠倒数次混匀。
使用前, Carrier RNA 与消化液 ACL 预先混匀, 每个样品中 Carrier RNA 的用量为 1µg (5µl)。
- 加入 1.8~9ml 结合液 ACB2 至样品中。颠倒混匀 10~15 次。冰上放置 5 分钟。按第二部分的真空抽滤方案或离心方案进行操作。

第二部分: 真空抽滤方案

- 把游离核酸吸附柱和真空接头连接到真空抽滤盒中, 把延长管插到游离核酸吸附柱子中。
- 把第四步获得的混合液(一次不超过 15ml)转移至柱子中并打开真空泵进行抽滤, 继续把混合液转移至柱子进行抽滤。抽滤完毕后, 关闭真空泵, 让压力下降为零。弃去延长管。
- 加入 850µl 洗涤液 DCW1 至柱子中, 抽滤完毕后, 关闭真空泵, 让压力下降为零。

- 加入 850 μ l 洗涤液 DCW2 至柱子中,抽滤完毕后,关闭真空泵,让压力下降为零。
- 加入 850 μ l 无水乙醇至柱子中,抽滤完毕后,关闭真空泵,让压力下降为零。
- 取下柱子,装在收集管中。13,000 \times g 离心 3 分钟。
- 取出柱子,装在 1.5ml 新的收集管中,56 $^{\circ}$ C 烘箱中干燥 10 分钟。
- 加入 40~60 μ l 洗脱液 AE 至柱子的膜中央。放置 3 分钟。13,000 \times g 离心 1 分钟。
- 把洗脱液转移至柱子的膜中央。放置 1 分钟。13,000 \times g 离心 1 分钟。
- 丢弃 DNA 结合柱,把 DNA 保存于-20 $^{\circ}$ C 或-80 $^{\circ}$ C。

第二部分:离心方案,[另外订购离心配件 LX-50,包括 50ml 离心管/支撑管/O 形圈]

- 把密封 O 形圈套在游离核酸吸附柱的中上部,然后把吸附柱与延长管、支撑管套在一起,然后放到 50ml 离心管中。
- 把第四步获得的混合液(一次不超过 11ml)转移至柱子,盖紧盖子,3,000 \times g 离心 3 分钟。
- 倒弃滤液,把余下的混合液转移至柱子中,盖紧盖子,3,000 \times g 离心 3 分钟。弃去延长管、支撑管、50ml 离心管和密封 O 形圈。
- 把吸附柱装在收集管中,加入 700 μ l 洗涤液 DCW1 至柱子,13,000 \times g 离心 1 分钟。
- 倒弃滤液,把吸附柱装回收集管中,加入 700 μ l 洗涤液 DCW2 至柱子,13,000 \times g 离心 1 分钟。
- 倒弃滤液,把吸附柱装回收集管中,加入 700 μ l 无水乙醇至柱子,13,000 \times g 离心 1 分钟。
- 倒弃滤液,把吸附柱装回收集管中,13,000 \times g 离心 3 分钟。
- 取出柱子,装在 1.5ml 新的收集管中,56 $^{\circ}$ C 烘箱中干燥 10 分钟。
- 加入 40~60 μ l 洗脱液 AE 至柱子的膜中央。放置 3 分钟。13,000 \times g 离心 1 分钟。
- 把洗脱液转移至柱子的膜中央。放置 1 分钟。13,000 \times g 离心 1 分钟。
- 丢弃 DNA 结合柱,把 DNA 保存于-20 $^{\circ}$ C 或-80 $^{\circ}$ C。

【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】

- 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。
- 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%。
- 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】

- 本品仅用于体外诊断。
- 实验前请仔细阅读本说明书。
- 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《微生物生物医学实验室生物安全通用准则》和《医疗废物管理条例》。
- 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:广州高新技术产业开发区玉树工业园敬业三街 7 号 D 栋 401 房

生产地址:广州高新技术产业开发区玉树工业园敬业三街 7 号 D 栋 401 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