

核酸提取试剂 说明书

【产品名称】核酸提取试剂

【包装规格】30 人份/盒

【预期用途】用于核酸的提取、富集、纯化等步骤。其处理后的产物用于临床体外检测使用。

【检验原理】本产品采用高结合力的超顺磁性的磁性粒子为基质，在高浓度离子化剂（如盐酸胍或异硫氰酸胍）条件下，纳米磁性粒子可通过氢键和静电吸附 DNA，而蛋白质和其他杂质不被吸附而去除。亚硫酸氢盐溶液转化吸附在磁性粒子的 DNA，将未甲基化的胞嘧啶转化成尿嘧啶，而甲基化的胞嘧啶保持不变，最终可以用低盐缓冲液（如洗脱液）或水，洗脱磁性粒子上的亚硫酸盐转化 DNA（BisDNA）。得到的 DNA 纯度高，可直接用于各种下游实验分析 DNA 甲基化。

【主要组成成分】

组分名称	主要成分	30 人份
裂解液 DL	Tris 和异硫氰酸胍	120mlx1
洗液 A	Tris 和异硫氰酸胍	40mlx1
洗液 B	水	15mlx1
磁珠	磁珠	3.5mlx1
洗脱液	Tris 和 EDTA	4mlx1
亚硫酸盐溶液	亚硫酸氢钠	1.9mlx4
保护液	四氢糠醇	0.8mlx1

【需自备的材料和设备】

1. 无水乙醇；
2. 磁力架；
3. 恒温震荡金属浴；

【储存条件及有效期】

试剂盒可在 2-30℃保存 12 个月。

【样本要求】

建议使用游离 DNA 采血管采集静脉血，如果无法使用游离 DNA 采血管，应采用 EDTA 抗凝管收集 5ml 静脉血，并务必在 4 小时内进行离心操作获得血浆。严格按照血浆分离实验标准操作规程的步骤，血浆标本可在 -20±5℃条件下存放 30 天，在 2~8℃存放不超过 12 小时。血浆避免反复冻融，仅可冻融 1 次。

【检验方法】

试剂配制

洗液 A 使用前，须按瓶子标签所示，加入 40ml 无水乙醇进行稀释。

洗液 B 使用前，须按瓶子标签所示，加入 65ml 无水乙醇进行稀释。

核酸纯化磁珠初次使用时，必须剧烈摇晃 1~2 分钟让磁珠充分分散。

操作步骤

1. 裂解

注意：低温储存试剂盒会导致裂解液 DL 结晶沉淀，如果使用前发现裂解液 DL 有结晶沉淀，可将其放入 55℃水浴中溶解。

- 将 2.0ml 血浆样本分别转移到事先标记好的 15ml 离心管中；加入 3.0ml 裂解液 DL。盖紧离心管盖，涡旋混匀。
- 把离心管置于轮状旋转混匀器上，室温中速（大约 10-20rpm）旋转 20 分钟。

2. DNA 结合

注意：充分混匀磁珠是试验成功的关键因素，磁珠数目的差异将产生错误结果。为了确保磁珠浓度均匀，移液前用涡旋混匀器充分混匀磁珠至瓶底无明显沉淀物。同时在移液过程中，也要保证磁珠的均匀悬浮。

- 将 100μl 磁珠（新鲜悬浮）添加到 15ml 离心管中；盖紧离心管盖，颠倒混匀 5-6 次。
- 把离心管置于轮状旋转混匀器上，室温中速（大约 10-20rpm）旋转 60 分钟。

3. DNA 洗涤

- 将 15ml 离心管放置于磁力架上吸附 1-3 分钟。小心倒掉上清（注意不要倒掉磁珠，倒掉上清时保持 15ml 离心管放置于磁力架上）。若血浆样本中磁珠不能被磁力架有效分离，请将上述步骤的 15ml 离心管取下，加入 2.5ml 裂解液颠倒混匀 5-6 次，重新放置在磁力架上进行磁珠分离。如仍不能有效分离磁珠，可将 15ml 离心管置于 55℃（50~60℃）水浴，10 分钟，放置磁力架上再次磁珠分离。
- 加入 1.0ml 洗液 A，涡旋混匀确保磁珠彻底重悬。用一次性移液管将磁珠悬浮液移至标记好的 1.5ml 离心管中。再次用移液管吸取残留磁珠悬浮液，将其转移至 1.5ml 离心管中。
- 将 1.5ml 离心管放置于磁力架上吸附 1 分钟，小心吸弃所有液体，注意不要吸取磁珠。
- 短暂离心 1.5ml 离心管。放置 1.5ml 离心管在磁力架上重新吸附 1 分钟，用 10-100μl 移液器尽量除去残余液体。
- 将离心管放置室温晾干 10 分钟

4. 亚硫酸盐转化

注意：亚硫酸盐溶液对氧气敏感，开封后的溶液最多使用两次，使用两次后未用完残液应丢弃。

- 依次向晾干的磁珠中加入 180 μl 亚硫酸盐溶液，20 μl 保护液，重悬磁珠。
- 将重悬磁珠转移到 PCR 管，将管置于 PCR 仪中，85℃恒温孵育 45 分钟，也可以使用其他恒温加热仪器，不要振荡。45 分钟后，立即将离心管取出。

5. 结合

- 将上述含有磁珠的反应液转移到 1.5ml 离心管。在离心管中加入：600μl 裂解液 DL，300μl 无水乙醇（或 400μl 洗液 B）。涡旋混匀。
- 将离心管置于轮状旋转混匀器中，调整转速为 10-20rpm，孵育 15 分钟。
- 短暂离心，将离心管置于磁力架 1 分钟，小心吸弃所有液体。

6.第一次洗涤

- 将离心管从磁力架上取下，加入 1000μl 洗液 A。涡旋混匀重悬磁珠，短暂离心。
- 将离心管置于磁力架 1 分钟，小心吸弃所有液体。

7.第二次洗涤

- 将离心管从磁力架上取下，加入 1000μl 洗液 B，涡旋混匀重悬磁珠，短暂离心，将含有磁珠的洗液转移到新的离心管中。
- 将离心管置于磁力架 1 分钟，小心吸弃所有液体。

8.第三次洗涤

- 将离心管从磁力架上取下，加入 1000μl 洗液 B，涡旋混匀重悬磁珠，短暂离心。
- 将离心管置于磁力架 1 分钟，小心吸弃所有液体。
- 短暂离心离心管，将离心管置于磁力架 1 分钟，用 10-100μl 移液器尽量除去残余液体。

9.晾干

- 打开离心管管盖，室温静置 10 分钟待乙醇挥发，不要震荡。
- 注意：不要增加晾干时间和温度。过度干燥会降低 BisDNA 回收率。

10.洗脱

- 将离心管移至无磁力架子上，加入 30-100μl 洗脱液。盖好离心管，涡旋混匀重悬磁珠。
- 将离心管放入恒温振荡器中，室温，100±10rpm 震荡 10 分钟。
- 短暂离心，将离心管置于磁力架 1 分钟。
- 用 10-100μl 移液器将洗脱液转移新的离心管中。

11.经亚硫酸盐转化的 DNA 储存

- 若提取后的 DNA 不立即使用，可 2~8℃储存 16 小时，或-20±5℃储存 4 天。

【检验方法的局限性】

1. 本方法只能提取游离 DNA,不能提取 RNA;
 2. 针对人血浆标本，不针对组织等其他标本；
 3. 严重溶血，高脂血，高胆红素样本存在游离 DNA 提取失败的可能；
- 标本中 DNA 的提取受样本条件、实验人员技能等多方面因素影响。实验室应建立独立的质量控制手段，以保证每次提取操作的可靠性。

【产品性能指标】

提取 DNA 含量及重复性：提取 10 管 2ml 参考品 DNA，定量 PCR 检测 ACTB 的平均 Ct 值≤35.0，且 10 个参考品 ACTB 平均 Ct 值的 CV<10%。

【注意事项】

1. 本试剂盒仅用于体外诊断。请在使用前仔细阅读此说明书。
2. 操作时注意：
 - 2.1 血浆标本不得反复冻融，否则会导致样本中 DNA 降解，减少 DNA 提取量。

2.2 低温储存试剂盒会导致裂解液 DL 结晶沉淀，如果使用前发现裂解液 DL 有结晶沉淀，可将其放入 55℃水浴中溶解。使用有结晶沉淀的裂解液 DL 会导致 DNA 提取量降低或提取失败。

2.3 洗液 A 使用前，须按瓶子标签所示，加入 40ml 无水乙醇进行稀释。

2.4 洗液 B 使用前，须按瓶子标签所示，加入 65ml 无水乙醇进行稀释。

2.5 核酸纯化磁珠初次使用时，必须剧烈摇晃 1~2 分钟让磁珠充分分散。

2.6 亚硫酸盐溶液对氧气敏感，开封后的溶液最多使用两次，使用两次后未用完溶液应丢弃。

2.7 如果下游实验对 RNA 污染比较敏感，建议洗脱后在样本中可加入无 DNA 酶的 RNA 酶以降低或消除 RNA 污染。如果实验室需要在提取体系中增加 RNA 酶，需经过严格验证后使用，本试剂盒并未提供 RNA 酶，需要实验室独立采购。

2.8 请穿实验服并戴一次性手套操作。

2.9 试剂可能刺激眼睛、皮肤和黏膜；一旦接触，应立即用大量清水冲洗并咨询医生。

2.10 本试剂盒内试剂废弃物及实验过程中的废弃物应按医疗废弃物进行处理。

2.11 使用本试剂盒进行核酸提取可以手动操作或与自动化核酸提取仪联合使用。

【标识的解释】

	运输温度 2-40℃		参考使用说明书
	体外诊断医疗器械		试剂盒含量足够测试份数
	向上		易碎
	怕晒		怕雨

【基本信息】

备案人/生产企业名称/售后服务单位名称：北京艾克伦医疗科技有限公司
住所：北京市昌平区科技园区白浮泉路 10 号 2 号楼北控科技大厦 3 层 302 室、9 层 9188 室
电话：010-89760098
生产地址：北京市昌平区科技园区白浮泉路 10 号 2 号楼北控科技大厦 3 层 302 室，北京市昌平区超前路 37 号 1 幢 4 层 5-4-2-01
生产备案凭证编号：京昌食药监械生产备 20220009 号

【医疗器械备案凭证编号/产品技术要求编号】

京昌械备 20180004

【说明书核准及修改日期】

核准日期：2018 年 01 月 29 日
修改日期：2022 年 04 月 26 日
说明书编号及版本号：InNAE01 R22042601