

核酸提取试剂说明书

【产品名称】

通用名称：核酸提取试剂

【包装规格】

32 测试/盒（非预封装）

【预期用途】

本试剂用于人血清、血浆样本中核酸（DNA、RNA）的提取、富集及纯化，其处理后产物可用于临床体外检测使用。

【检验原理】

本试剂通过高浓度胍盐和表面活性剂对细胞或病毒的外结构进行破坏，使核酸得到释放。通过可固液分离的磁珠吸附核酸，并与液相（杂质）分离，经过洗涤纯化得到的核酸产物可直接用于后续检测。

【主要组成成分】

试剂名称	规格与装量	主要组成成分
裂解液	20mL/瓶×1瓶	含硫氰酸胍
磁珠悬液	2.4mL/支×1支	含磁珠
消解液	3mL /支×1支	含蛋白酶K、polyA
洗涤液A	16mL/瓶×1瓶	含硫氰酸胍
洗涤液B	7mL/瓶×1瓶	含NaCl、Tris
洗脱液	3.5mL/支×1支	含Tris、NaN ₃
磁珠稀释液	18mL/瓶×1瓶	纯化水

【储存条件及有效期】

1. 试剂置于 2~8℃ 保存和运输，有效期为 12 个月。
2. 试剂开瓶使用后，建议在 2 周以内用完。
3. 生产日期、使用期限或者失效日期详见标签。

【适用仪器】

Hamilton STARlet、天隆 PANA9600s、天隆 GeneRotex96、天隆 NP968 核酸提取仪等。

【样本要求】

1. 适用样本类型：人血清、血浆样本。
2. 样本采集和保存：采集血清样本时，采血 6 小时内必须分离、收集血清（切勿吸入红细胞），并将血清转移至一次性使用的无菌离心管中。采集血浆样本时，采用含有 EDTA 或枸橼酸钠（ACD）作为抗凝剂的采血管（不可用肝素抗凝），分离血浆（切勿吸入红细胞），转移至一次性使用的无菌离心管中。
3. 样本运输：样本运输应采用泡沫箱加冰袋或者加干冰密封运送。
4. 待测样本可暂存于 2~8℃（5 天内）；如不及时检测，应保存于 -20℃ 及以下（1 个月内），检测前取出恢复至室温；反复冻融不宜超过 3 次。

【检验方法】

（一）手工法提取

实验前准备

1. 取出试剂盒中各组分，平衡至室温后待用；
2. 开启恒温金属浴，温度设置为 55℃；
3. [洗涤液 B]首次使用时，应按照瓶身标签说明加入无水乙醇，上下颠倒混匀并做好标记[洗涤液 B 工作液]；
4. 根据待处理样本的数量，按[裂解液]：[磁珠悬液]：[消解液] = 550:50:64（μL/测试）的比例混匀成[裂解工作液]备用。

注意：磁珠悬液使用前用移液器吹吸或涡旋震荡充分混匀。

核酸提取

1. 吸取 664μL[裂解工作液]于 1.5mL 离心管中，再加入 400μL 待处理样本，盖上管盖，涡旋震荡混匀；
2. 55℃ 温育 25 min；

3. 短暂离心 5~10s, 将离心管放置于磁性分离器上, 静置 2min。待磁珠完全吸附后用移液器吸弃液体;
注意: 涡旋震荡混匀后需短暂离心以去除管盖内壁的液滴;
用移液器吸弃液体时注意不要碰到吸附于管壁的磁珠。
4. 加入 450μL[洗涤液 A], 盖上管盖, 漩涡震荡混匀;
5. 短暂离心 5~10s, 将离心管放置于磁性分离器上, 静置 2min。待磁珠完全吸附后用移液器吸弃液体;
6. 加入 450μL [洗涤液 B 工作液] (已加入无水乙醇), 盖上管盖, 漩涡震荡混匀;
7. 短暂离心 5~10s, 将离心管放置于磁性分离器上, 静置 2min, 待磁珠完全吸附后用移液器吸弃液体, 打开管盖室温晾干 2~4min;
注意: 乙醇残留会抑制后续的酶反应, 所以晾干时要确保乙醇挥发干净, 但也不要干燥太长时间, 以免难以洗脱核酸。
8. 加入 50~100μL [洗脱液], 漩涡震荡至磁珠全部分散于液相中, 80℃温育 10min, 期间每隔 3min 混匀一次;
9. 低速离心 2min, 将离心管放置于磁性分离器上, 静置 1min, 待磁珠完全吸附后用移液器将核酸溶液转移至新的 1.5mL 离心管中, 2~8℃暂存备用, 或放置于-20℃及以下贮存。

(二) 自动化仪器提取 (可按配套仪器的操作说明书进行操作, 以下操作以核酸提取仪天隆 GeneRotex96 和 NP968 为例)

实验前准备

1. 取出试剂盒中各组分, 平衡至室温后待用;
2. [洗涤液 B]首次使用时, 应按照瓶身标签说明加入无水乙醇, 上下颠倒混匀并做好标记[洗涤液 B 工作液];
3. 根据待处理样本的数目, 分别向深孔板第 1 列和第 7 列各孔中加入 550μL [裂解液]和 64μL [消解液];
4. 分别向深孔板第 2 列和第 8 列各孔中加入 50μL [磁珠悬液]和 450μL [磁珠稀释液];
5. 分别向深孔板第 3 列和第 9 列各孔中加入 450μL [洗涤液 A];
6. 分别向深孔板第 4 列和第 10 列各孔中加入 450μL [洗涤液 B 工作液];
7. 分别向深孔板第 6 列和第 12 列各孔中加入 70~100μL [洗脱液];
8. 分别向深孔板第 1 列和第 7 列各孔中加入 400μL 待处理样本。

实验准备完成后, 按以下程序进行核酸提取:

➤ 该程序匹配天隆 GeneRotex96

步骤	孔位	名称	搅拌时间 (min)	磁吸 (min)	等待 (min)	转速 (rpm)	体积 (μL)	温控 (℃)
1	2	移磁	1	2	0	2500	500	关闭
2	1	裂解	25	5	0	2500	1014	55
3	3	洗涤 A	5	4	0	2500	450	关闭
4	4	洗涤 B	5	4	4	2500	450	关闭
5	6	洗脱	10	3	0	2500	70	80
6	2	弃磁	0	0	0	2500	450	关闭

➤ 该程序匹配天隆 NP968

步骤	孔位	名称	等待时间 (min)	混合时间 (min)	磁吸时间 (sec)	混合 速度	容积 (μL)	温度 状态	温度 (℃)
1	2	移磁	0	1	60	中	500	关闭	/
2	1	裂解	0	25	90	中	1014	裂解加热	55
3	3	洗涤 A	0	5	90	中	450	关闭	/
4	4	洗涤 B	0	5	90	中	450	关闭	/
5	6	洗脱	4	10	90	中	70	洗脱加热	80
6	2	弃磁	1	1	0	慢	450	关闭	/

自动化程序结束后, 提取产物可直接用于后续扩增检测, 也可将第 6 列和第 12 列各孔中的核酸提取产物分别转移至无核酸酶的离心管中, 2~8℃暂存备用, 或放置于-20℃及以下贮存。

(三) Hamilton STARlet 全自动化工作站

实验前准备

1. 取出试剂盒中各组分, 平衡至室温后待用;

2. **[洗涤液 B]**首次使用时，应按照瓶身标签说明加入无水乙醇，上下颠倒混匀并做好标记**[洗涤液 B 工作液]**。

核酸提取

1. 核酸提取时，需根据提取样本数量计算试剂使用量（裂解液 550 μ L/测试、磁珠悬液 50 μ L/测试、消解液 64 μ L/测试、洗涤液 A 450 μ L/测试、洗涤液 B 工作液 450 μ L/测试、洗脱液 70 μ L/测试），将计算好的各组分试剂量倒入相应试剂槽，运行核酸提取程序；
2. 自动化程序结束后，提取产物可直接用于后续扩增检测，也可将核酸提取产物分别转移至无核酸酶的离心管中，2~8℃暂存备用，或放置于-20℃及以下贮存。

【检验方法的局限性】

1. 本试剂仅用于样本中核酸类物质的提取。
2. 样本的收集、处理、运送及保存质量都会直接影响核酸的提取效果。

【产品性能指标】

1. 外观：试剂组分齐全，包装外观洁净，无泄漏或破损；盒内各组分标签上信息清晰、印刷准确；说明书清楚完整，字迹清晰。
2. 物理性状：裂解液为蓝色半透明液体，洗涤液 A 为红色半透明液体，洗涤液 B、洗脱液、消解液及磁珠稀释液均为无色透明液体；磁珠悬液经上下颠倒 4~5 次混匀后，应呈现为悬浮液状态，无结块和絮凝产生。
3. 精密度：使用本试剂盒进行核酸提取，实时荧光定量检测 Ct 值变异系数（CV） $\leq 5\%$ 。

【注意事项】

1. 操作前应仔细阅读说明书并严格按照操作步骤完成，操作人员应具有经验并培训合格。
2. 本试剂中所有的组分在使用前均需平衡至室温，离心管内的试剂需短暂离心后使用。
3. 本试剂需在有效期内使用。
4. 不同批号产品的成分之间不得混用或互换。
5. 不建议使用高胆红素、高甘油三酯样本。
6. 实验中产生的废弃物应严格按实验室生物安全要求进行处理，防止污染环境。
7. 操作过程中应特别注意防止 DNase、RNase 对核酸的降解，所使用的耗材应无 DNase 和 RNase 污染。
8. 操作过程中，避免试剂及污染物与皮肤、眼睛或粘膜接触。一旦接触，立即用大量清水清洗接触部位。
9. 样本处理过程应在超净工作台、生物安全柜或其他基本防护设施中进行，以防止生物污染。
10. 裂解液、洗涤液 A 中含有硫氰酸胍有毒性，应避免废液与次氯酸钠溶液接触，以免发生反应产生有毒气体。
11. 洗脱液中含 NaN₃，为有毒物质；且应避免与铜、铅等接触，避免形成具有易爆性的叠氮金属化合物。

【参考文献】

- [1] Boom R, Sol CJ, Salimans MM, Jansen CL, Wertheim-van Dillen PM, van der Noordaa J. Rapid and simple method for purification of nucleic acids. *J Clin Microbiol*.1990, 28:495–503.
- [2] Chiang C-L,Sung C-S, Wu T-F, Chen C-Y, Hsu C-Y. Application of superparamagnetic nanoparticles in purification of plasmid DNA from bacterial cells. *J Chromatogr B*, 2005, 822:54–60.
- [3] Prodelalova J, Rittich B,Spanova A, Petrova K, Benes MJ. Isolation of genomic DNA using magnetic cobalt ferrite and silica particles. *J Chromatogr A*. 2004, 1056:43–48.

【基本信息】

备案人/生产企业名称：上海科华生物工程股份有限公司

住所：上海市徐汇区钦州北路 1189 号

联系方式：021-64851188, 021-64850088-6655

售后服务单位名称：上海科华生物工程股份有限公司

联系方式：8008203370, 4009201238

生产地址：上海市徐汇区桂平路 701 号

生产备案凭证编号：

【医疗器械备案凭证编号/产品技术要求编号】

【说明书核准日期及修改日期】