

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】

预分装包装：32 人份/盒、48 人份/盒、64 人份/盒；

单人份包装：20 人份/盒、40 人份/盒。

【预期用途】

本试剂用于核酸的提取、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】

本试剂适用于从痰液、肺泡灌洗液、咽拭子等样本中提取细菌、真菌 DNA。本试剂盒采用具有独特分离作用的磁珠和独特的缓冲液系统，磁珠在一定条件下对核酸具有很强的亲和力，而当条件改变时，磁珠释放吸附的核酸，能够达到快速分离纯化核酸的目的。整个过程安全、便捷，提取得到高纯度的病原 DNA，质量稳定可靠，尤其适合高通量工作站的自动化提取。提取的核酸可直接用于 PCR、RT-PCR、Real-Time PCR 等各种下游实验。

【主要组成成分】

本试剂盒由裂解管、磁珠、裂解液、洗涤液、漂洗液、洗脱液组成。试剂盒包含见下表：

货号	规格	产品组分		磁棒套
		裂解管	预分装核酸提取试剂	
CN8053-A32T	32 人份/盒	32 支	2 板	4 条
CN8053-A48T	48 人份/盒	48 支	3 板	6 条
CN8053-A64T	64 人份/盒	64 支	4 板	8 条
CN8053-B20T	20 人份/盒	20 支	20 条	6 条
CN8053-B40T	40 人份/盒	40 支	40 条	10 条

注：CN8053-B20T 和 CN8053-B40T 为单人份包装。

【储存条件及有效期】

1. 试剂运输：常温运输。
2. 试剂保存及有效期：常温储存，有效期 12 个月。
3. 生产日期和失效日期见包装标签。

【适用仪器】

基于磁珠吸附原理的全自动或半自动核酸提取仪，如济凡 Purifier32 全自动核酸提取纯化仪、卓诚惠生 MagiCube48 全自动核酸提取仪、卓诚惠生 PreSec 9600 全自动核酸提取仪。

【样本要求】

咽拭子样本采集：按照国家卫健委及其下属权威机构颁布的临床检测相关的要求进行。若体积不足 200μL，可以加入生理盐水或 PBS 使总体积达到 200μL 后再进行提取。样本应尽快进行检测，能在 72 小时内检测的样本可置于 2~8℃ 保存；72 小时内无法检

测的样本则应置于 -70℃ 或以下保存（如无 -70℃ 保存条件，则于 -20℃ 冰箱暂存）。样本应避免反复冻融。

痰液样本采集：采用无菌痰液样本收集盒。患者留取的痰液样本，应由检验人员或经培训的专业人员目视检查样品质量：样本量一般在 3~5mL，样本形状属于干酪痰、褐色血痰或含少量新鲜血液的血痰、粘液痰者为合格的样本；痰液样本不合格者，如唾液样本，应在专业人员的进一步指导取样后重新送检。样本应尽快检测，2~8℃ 条件下可以保存 72 小时，-20±5℃ 条件下可以保存 12 个月。冻存的标本反复冻融后应充分混匀，避免 5 次以上反复冻融。

肺泡灌洗液采集：局部麻醉后将纤维支气管镜通过口或鼻经过咽部插入右肺中叶或左肺舌段的支管，将其顶端契入支气管分支开口，经气管活检孔缓缓加入灭菌生理盐水，每次 30-50mL，总量 100-250mL，不应超过 300mL。样本应尽快检测，2~8℃ 条件下可以保存 72 小时，-20±5℃ 条件下可以保存 12 个月。冻存的标本反复冻融后应充分混匀，避免 5 次以上反复冻融。

【检验方法】

一、样本的前处理

NaOH 法：取一定量的样本（建议 500-1000 μL）加到离心管中，视样本的粘稠度，加入 1-4 倍体积的 4%NaOH，盖严管盖，涡旋振荡 1 分钟，生物安全柜内放置 15~20min，样本应清澈透明。

DTT 法：取一定量的样本（建议 500-1000 μL）加到离心管中，视样本的粘稠度，加入 1-4 倍体积的 0.1%DTT，盖严管盖，涡旋振荡 1 分钟，生物安全柜内放置 15~20min，样本应清澈透明。

注：痰液/肺泡灌洗液液化试剂请自备，任选其中一种方法，均可用于样本制备。肺泡灌洗液如为清澈透明无需前处理，咽拭子无需前处理。

二、样本破壁

振荡破壁：取 500μL 液化后的痰液样本、肺泡灌洗液或咽拭子样本加入到裂解管中，最高转速（不低于 2500rpm）振荡 10min，瞬时离心备用。

加热破壁：取 500μL 液化后的痰液样本、肺泡灌洗液或咽拭子样本加入到裂解管中，95℃ 加热 10min，瞬时离心，恢复至室温后备用。

注：任选其中一种方法，均可用于样本破壁。

三、待测核酸样本提取

1. 预分装核酸提取试剂：

（1）将预分装核酸提取试剂取出。轻甩孔板，使试剂及磁珠均集中到孔板底部（96 孔板也可使用孔板离心机瞬时离心），使用前小心撕去封口膜，避免孔板振动，防止液体溅出。

（2）取破壁后的样本 200μL 转移到预分装试剂的第 2/8 列中，将 96 孔预分装试剂直接放置于提取仪 96 孔板底座上，然后将磁棒套插入提取仪磁棒套架卡槽内

（3）预分装 96 孔板内试剂分布见下表。

孔位	列 1/7	列 2/8	列 3/9	列 4/10	列 5/11	列 6/12
试剂	磁珠	裂解混合物	洗涤液	漂洗液	/	洗脱液
装量	400μL	600μL	500μL	600μL	/	60μL

2. 单人份核酸提取试剂:

(1) 将单人份核酸提取试剂取出。轻甩孔板, 使试剂及磁珠均集中到孔板底部, 使用前小心撕去封面膜, 避免孔板振动, 防止液体溅出。

(2) 将破壁后的液体混合物取 200 μ L 转移到预分装试剂的第 2 个孔中, 将单人份试剂先放置于底座支架上, 再放置于提取仪 96 孔板底座上, 然后将磁棒套插入提取仪磁棒套架卡槽内。

(3) 预分装单人份试剂分布见下表。

孔位	列 1	列 2	列 3	列 4	列 5	列 6
试剂	磁珠	裂解混合物	洗涤液	漂洗液	/	洗脱液
装量	400 μ L	600 μ L	500 μ L	600 μ L	/	60 μ L

3. 仪器提取核酸: 建议按照如下程序进行核酸的提取过程。

步骤	孔位	名称	混匀时间(s)	混合速度	磁吸时间(s)	循环次数	等待时间(s)	体积(μ L)	温度($^{\circ}$ C)	加热时间(s)
1	1	吸磁珠	30	快速	30s	1	0	400 μ L	/	/
2	2	裂解	480	中速	60s	1	0	600 μ L	70	120
3	3	洗涤	60	中速	15s	1	0	500 μ L	/	/
4	4	漂洗	60	中速	15s	1	120	600 μ L	/	/
5	6	洗脱	120	中速	30s	3	0	60 μ L	80	180
6	1	弃磁珠	15s	快速	0s	0	0	400 μ L	/	/

程序运行结束后, 收集第 6 列、第 12 列中洗脱后的溶液, 即为所提取的核酸。

注: 核酸提取仪使用前, 均需使用紫外灯照射 15min。

【检验方法的局限性】

1. 本试剂盒仅提供临床适用样本的核酸提取, 结果用于核酸的定性或定量检测。
2. 提取过程应避免因环境污染而导致引入细菌、真菌, 造成后续实验结果的假阳性。
3. 工作台及各种实验用品应定期使用 1%的次氯酸钠、75%酒精或紫外灯进行消毒。
4. 使用灭菌处理的无酶、无 DNA、无菌的带滤芯枪头和离心管。
5. 操作时要戴乳胶手套和眼镜, 避免沾染皮肤、眼睛和衣服, 谨防吸入口鼻。若沾染皮肤、眼睛要立即用大量清水冲洗, 必要时寻求医疗帮助。
6. 可靠的结果取决于样本采集、转运、储存及处理程序。
7. 该试剂仅限于规定的样本类型及适用机型。
8. 不同型号的核酸提取仪由于硬件的关系可能需要不同的磁棒套, 也可能需要设

置不同的提取程序, 详细参数设置可以咨询本公司。

9. 样本量: 不超过 200 μ L。

【产品性能指标】

提取企业阳性参考品, 企业阳性参考品符合率为 4/4。提取企业阴性参考品, 企业阴性参考品符合率为 4/4。提取企业精密度参考品, 重复提 10 次, 其 Ct 值的变异系数 (CV,%) $\leq$ 5%。

【注意事项】

1. 使用前请仔细阅读说明书, 并严格按照要求操作。
2. 操作人员需要经过相关培训方可上岗。
3. 注意样本操作不要产生交叉污染。
4. 裂解液如出现结晶, 此为正常现象, 请 50~60 $^{\circ}$ C 孵育 30 分钟至结晶完全融化后摇匀, 并冷却到室温再使用。
5. 超出有效期的产品请勿使用, 不同批号的试剂组分切勿混用。
6. 本试剂盒涉及的待测样本应视为具有传染性物质, 操作和处理均需符合卫生部《微生物和生物医学实验室生物安全通用准则》和《医疗废物管理条例》相关要求。

【参考文献】

1. 戎国栋,赵鸿,吴蕾,黄珮珩,王芳,张燕,徐婷.全自动核酸提取检测仪选择和评价方案的建立和应用[J]分子诊断与治疗杂志,2019,11(03):233-237.
2. Boehme CC,Nabeta P,Hillemann D,et al. Rapid molecular detection of tuberculosis and rifampin resistance [J] N Engl J Med, 2010, 363 (11) :1005-1015.
- 3.任晓东,李一松,姜毓君.优化金黄色葡萄球菌基因组 DNA 的提取方法 [J] 东北农业大学学报 ,2009,40 (1) :92-96.
4. 周村建,郝飞,王鲁.白念珠菌总 RNA 提取的实验研究 [J] 中华皮肤科杂志. 2004 , 37 (8) : 494-495.

【基本信息】

备案人/生产企业名称: 北京卓诚惠生生物科技股份有限公司
住所: 北京市昌平区生命科学园科学园路 37 号院 1 号楼 C 座 101 室
联系方式: 400-6500-984
售后服务单位名称: 北京卓诚惠生生物科技股份有限公司
联系方式: 400-6500-984
生产地址: 北京市昌平区沙河镇昌平路 97 号 5 幢 C 门 101, 6 幢 504
生产备案凭证编号: 京昌药监械生产备 20190007 号

【医疗器械备案凭证编号/产品技术要求编号】京昌械备 20200083 号

【说明书核准日期及修改日期】

核准日期: 2020 年 10 月 16 日
修改日期: 2023 年 5 月 16 日

