【产品名称】

通用名称：核酸提取或纯化试剂

商用名称：柱法通用 DNA 提取试剂盒

【包装规格】

100 人份(货号 IVD3018)

【预期用途】

本产品适用于从各种临床样本（血液、组织、脱落细胞、FFPE 样品、血清、血浆、血斑、口腔拭子、唾液）中提取高纯度的 DNA，提取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 ATL 和蛋白酶 K 作用下裂解消化，DNA 释放到裂解液中。加入变性液 AL 和乙醇后，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 GW1 洗涤蛋白质和其它杂质，经洗涤液 GW2 洗涤去除盐分，最后 DNA 被低盐缓冲液（10Mm Tris,pH9.0, 0.5mm EDTA）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 | IVD3018 | 主要成分 |
|---|---|---|
| DNA 吸附柱 | 100 | 纯化柱 |
| 收集管 | 200 | 塑料管 |
| 蛋白酶 K | 50 mg | 重组蛋白酶 K |
| 蛋白酶溶解液 | 5 ml | 甘油/Tris/$CaCl_2$ |
| 消化液 ATL | 60 ml | Tris/EDTA/SDS |
| 变性液 AL | 60 ml | NaAc/Tween-20/盐酸胍 |
| 洗涤液 GW1 | 26 ml | 盐酸胍 |
| 洗涤液 GW2 | 50 ml | Tris/NaCl |
| 洗脱液 AE | 30 ml | 10Mm Tris,pH9.0, 0.5mm EDTA |

【储存条件及有效期】

本产品室温下运输，收到产品后，把蛋白酶 K 保存于-20-8℃。其它组份保存于室温，有效期 18 个月。

【准备工作】

- 溶解蛋白酶 K: 加入 2.5ml 蛋白酶溶解液至瓶子中，溶解后保存于-20~8℃。
- 使用前，洗涤液 GW1/洗涤液 GW2 按标签所示，加入适量的无水乙醇进行稀释。

## 第一部分：样品的裂解和消化

### A. 组织(<20mg)

1. **把不超过 20mg 组织剪切成小碎片，转移至 1.5ml 离心管中，加入 200µl 消化液 ATL 和 20µl 蛋白酶 K。**55℃振荡温浴 30~120 分钟或直至样品完全消化。
- 可选，加入 10µl RNase A（另外订购）混匀，室温静置 15 分钟。

2. 若消化液浑浊或未消化物质，13,000 x g 离心 3 分钟，转移上清液至新的 1.5ml 离心管中。

3. **加入 200µl 变性液 AL，**涡旋混匀 10 秒，70℃温浴 10 分钟。

4. **加入 200µl 无水乙醇，**涡旋混匀 10 秒，按第二部分进行操作。

### B. FFPE 组织或切片

1. 切取数个(<8 片)切片并转移至 1.5~2.0ml 离心管中，**加入 650µl 脱蜡液 DPS(另外订购，DPS-80)，56℃水浴 6 分钟，立即涡旋 15~20 秒让石蜡充分溶解。**13,000 x g 离心 3 分钟，吸弃脱蜡液，残留少量的液体不影响提取。

2. **加入 200µl 消化液 ATL 和 20µl 蛋白酶 K，混匀，**56℃温育 60 分钟，90℃温育 60 分钟。
- 可选，加入 10µl RNase A（另外订购）混匀，室温静置 15 分钟。

3. **加入 200µl 变性液 AL，混匀，加入 200µl 无水乙醇，混匀。**按第二部分进行操作。

### C. 干血片（FTA Card 或其它干血片）

1. 用打孔器在血片上打 3~5 个 3mm 直径的血片，转移 2.0ml 离心管中。**加入 20µl 蛋白酶 K 和 500µl 消化液 ATL，55℃振荡（900-1200rpm）温育 60 分钟。**

2. **加入 500µl 变性液 AL，70℃振荡（900-1200rpm)温育 15 分钟。**

3. 13,000 x g 离心 1 分钟。转移上清至新的离心管，加入 0.5 倍无水乙醇，涡旋 10 秒混匀。按第二部分进行操作。

### D. 抗凝血液(200µl)

1. **在 1.5ml 离心管中，加入 20µl 蛋白酶 K 和 200µl 抗凝血液、血清、血浆等样品至装有蛋白酶 K 管子中，**振荡混匀 5 秒。

2. **加入 200µl 变性液 AL，高速涡旋 10 秒。**70℃振荡(~900rpm)温浴 10 分钟。

3. **加入 200μl 无水乙醇至样品中，高速涡旋 10 秒。**按第二部分进行操作。

## E. 唾液/血浆等液体样品(DNA 低含量样品)

1. 在 2ml 离心管中，加入 20μl 蛋白酶 K 和 500μl 唾液等样品，振荡混匀 5 秒。65℃振荡温浴 30 分钟。
2. **加入 500μl 变性液 AL，涡旋 5 秒，加入 500μl 无水乙醇，涡旋 10 秒。**按第二部分进行操作。

## F. 培养或脱落细胞

1. 2，000~2,500x g 离心 10 分钟收集培养或脱落细胞（不超过 5 x $10^6$），小心吸尽溶液。
2. **加入 200μl Buffer PBS 或洗脱液 AE 和 20μl 蛋白酶 K 至样品中，**涡旋 5 秒打散细胞。

- 若需去除 RNA，加入 10μl RNase A（另外订购）至消化液中混匀后，室温静置 15 分钟。

3. **加入 200μl 变性液 AL，**涡旋混匀 15 秒。65℃振荡温浴 15 分钟。
4. **加入 200μl 无水乙醇，**涡旋混匀 15 秒。按第二部分进行操作。

## G. 干拭子

1. 把拭子转移至 2ml 离心管，**加入 500μl 消化液 ATL 和 20μl 蛋白酶 K，**56℃振荡温育 1 小时。
2. **加入 500μl 变性液 AL，涡旋 10 秒。**70℃温浴 10 分钟。
3. **加入 500μl 无水乙醇，**涡旋 10 秒。按第二部分进行操作。

## H. 湿拭子(非裂解型)

1. 5,000 x g 离心 10 分钟离心收集脱落细胞，吸弃多余的保存液，余下~500μl 保存液和拭子.
2. **加入 500μl 变性液 AL 和 20μl 蛋白酶 K，涡旋 10 秒。**65℃温浴 30 分钟。
3. **加入 500μl 无水乙醇，**涡旋 15 秒混匀。按第二部分进行操作。

## 第二部分：过柱纯化

1. 把 DNA 吸附柱装在收集管中。**转移<750μl 混合液(包括沉淀)至柱子中。**10,000 x g 离心 1 分钟。
2. (混合液超过 750μl) 倒弃滤液，把柱子重新装回收集管中。**转移剩余的混合液(包括沉淀)至柱子中。**10,000 x g 离心 1 分钟。
3. 弃去废液和收集管。把柱子装在新的收集管中。**加入 500μl 洗涤液 GW1(已用乙醇稀释)至柱子上。**10,000 x g 离心 1 分钟。
4. 倒弃滤液，把柱子重新装回收集管中。**加入 650μl 洗涤液 GW2(已用乙醇稀释)至柱子中。**10,000 x g 离心 1 分钟。
5. 倒弃流出液，把柱子重新装回收集管中。10,000 × g 离心 2 分钟。
6. 将柱子装在新的 1.5ml 离心管中。**加入 20~100μl 预热至 70℃ 洗脱液 AE 至柱子的膜中央。**放置 3 分钟，10,000 x g 离心 1 分钟。

11. 丢弃 DNA 结合柱，把 DNA 保存于 2~8℃，长期保存需保存于-20℃

## 【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. 核酸纯度: 按说明书提取 200ul 血液，检测 DNA 产物时，OD260/280 值在 1.7-2.0, A260/230 在 1.2-1.8，且 CV 值小于 10%。
3. 核酸产量：根据说明书提取 200ul 血液时，检测 DNA 产物时，核酸产量在 3~10ug，且 CV 值小于 15%。

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