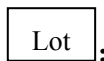


5. 实验过程是产生的废液、废物请按医疗垃圾处理程序进行处理。

**【标识的解释】**

 IVD: 体外诊断试剂

 Lot: 产品批号

 10°C~30°C: 保存温度

**【基本信息】**

备案人/生产企业名称: 瑞因迈拓科技(广州)有限公司

住所/生产地址: 广州市黄埔区开源大道188号七栋102房

联系方式: 400-801-3391

售后服务单位名称: 瑞因迈拓科技(广州)有限公司

**【医疗器械备案凭证编号/产品技术要求编号】:** 粤穗械备20210941号

**【医疗器械生产备案编号】:** 粤穗食药监械生产备20210064号

**【说明书核准及修改日期】:** 2021年9月15日

## 核酸提取或纯化试剂说明书

货号: DX3350101

### 【产品名称】

通用名: 核酸提取或纯化试剂

### 【型号规格】

50 人份/盒

### 【预期用途】

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】

本试剂盒采用特殊条件裂解组织并释放组织中 DNA, 采用 DNA 特异亲和性的吸附柱结合 DNA, 通过漂洗流程, 去除非 DNA 类物质的污染, 利用特异的缓冲液系统将高品质的 DNA 纯化至小洗脱体积中, 得到高质量的 DNA。

### 【主要组成成分】

试剂盒	组分名称	规格	数量
核酸提取或纯化试剂 试剂 1	缓冲液 GB	15 mL/瓶	1 瓶
	漂洗液 GD	13 mL/瓶	1 瓶
	漂洗液 PW	15 mL/瓶	1 瓶
	蛋白酶 K	1 mL/管	1 管
	TB 缓冲液	15 mL/瓶	1 瓶
	金属铅珠	1 g/管	50 管
	RNase-Free 吸附柱 CR2	50 个/包	1 包
收集管	50 个/包	1 包	
核酸提取或纯化试剂 试剂 2	溶菌酶溶液	1 mL/管	4 管

### 【储存条件及有效期】

1. 核酸提取试剂盒 试剂 1: 常温保存 12 个月;
2. 核酸提取试剂盒 试剂 2: -20℃ 保存 12 个月;

### 【适用仪器】

多种，无特殊要求。

### 【样本要求】

1. 样本类型：痰及呼吸道分泌物、肺泡灌洗液、拭子、脑脊液、骨髓、粪便等样本。
2. 样本保存和运输：经上述采集的样本可立即用于实验处理，或将样本在-80℃或液氮条件下长期保存。

### 【检验方法】

使用前请先在漂洗液GD和漂洗液PW中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶上的标签。

#### 1. 样本前处理

##### 1.1 样本富集

###### a 痰及呼吸道分泌物

取痰液或呼吸道分泌物 3 mL，加等量液化剂（自备）混匀，37℃孵育30分钟，每隔10分钟取出样本管震荡混匀（三次）。孵育完成后混匀取2 mL，10000×g离心15分钟，保留沉淀及100 μL上清用于核酸提取。

###### b 肺泡灌洗液（胸腹水、穿刺液、关节液、脓液等同肺泡灌洗液）

肺泡灌洗液样本混匀，取1.5 mL到新的离心管中，10000×g离心15分钟，保留沉淀及100 μL 上清用于核酸提取。

###### c 拭子

向灭活的拭子管中加450 μL PBS，涡旋振荡5分钟，10000×g离心15分钟，保留沉淀及100 μL上清用于核酸提取。

###### d 脑脊液

脑脊液样本混匀，取1.5 mL到新的离心管中，10000×g离心15分钟，保留沉淀及100 μL上清用于核酸提取。

###### e 骨髓

骨髓样本混匀，取1mL到新的离心管中，10000×g离心15分钟，保留沉淀及100μL上清用于核酸提取。

###### f 粪便

向粪便样本加入500μLPBS或生理盐水溶解，混匀后45×g离心5分钟，取100μL上清用于核酸提取。

#### 2. DNA提取

- a. 在上述弃上清后的样本富集管中添加110 μL TB缓冲液和70 μL溶菌酶溶液，37℃处理40分钟。
- b. 向离心管加入1 g金属铅珠，盖紧管盖，室温漩涡震荡20分钟。

- c. 全部上清加入到新的离心管，向管中加入20  $\mu\text{L}$ 蛋白酶K溶液，混匀。
- d. 加入220  $\mu\text{L}$ 缓冲液GB，振荡15秒，70  $^{\circ}\text{C}$ 放置10分钟，溶液应变清亮，简短离心以去除管盖内壁的水珠。

注意：加入缓冲液 GB 时可能会产生白色沉淀，一般 70  $^{\circ}\text{C}$ 放置时会消失，不会影响后续实验。如溶液未变清亮，说明细胞裂解不彻底，可能导致提取 DNA 量少和提取出的 DNA 不纯。

- e. 加 220  $\mu\text{L}$  无水乙醇，充分振荡混匀 15 秒，此时可能会出现絮状沉淀，简短离心以去除管盖内壁的水珠。
- f. 将上一步所得溶液和絮状沉淀都加入 RNase-Free 吸附柱 CR2（吸附柱放入收集管中），12,000 rpm( $\sim$ 13,400 $\times$ g)离心 30 秒，倒掉废液，将吸附柱 CR2 放入收集管中。
- g. 向吸附柱 CR2 中加入 500  $\mu\text{L}$  漂洗液 GD（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm( $\sim$ 13,400 $\times$ g)离心 30 秒，倒掉废液，将吸附柱 CR2 放入收集管中。
- h. 向吸附柱 CR2 中加入 600  $\mu\text{L}$  漂洗液 PW（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm( $\sim$ 13,400 $\times$ g)离心 30 秒，倒掉废液，吸附柱 CR2 放入收集管中。
- i. 重复操作步骤 h。
- j. 将吸附柱 CR2 放回收集管中，12,000 rpm( $\sim$ 13,400 $\times$ g)离心 2 分钟，倒掉废液。将吸附柱 CR2 置于室温放置数分钟，以彻底晾干吸附材料中残余的漂洗液。

注意：这一步的目的是将吸附柱中残余的漂洗液去除，漂洗液中乙醇的残留会影响后续的酶反应（酶切、PCR 等）实验。

- k. 将吸附柱 CR2 转入一个干净的离心管（自备）中，向吸附膜的中间部位悬空滴加 50-200  $\mu\text{L}$  TB 缓冲液，室温放置 2-5 分钟，12000 rpm ( $\sim$ 13,400 $\times$ g)离心 2 分钟，将溶液收集到离心管中。

注意：洗脱缓冲液体积不应少于 50  $\mu\text{L}$ ，体积过小影响回收效率。洗脱液的 pH 值对于洗脱效率有很大影响。若用 ddH<sub>2</sub>O 做洗脱液应保证其 pH 值在 7.0-8.5 范围内，pH 值低于 7.0 会降低洗脱效率；且 DNA 产物应保存在-20 $^{\circ}\text{C}$ ，以防 DNA 降解。为增加基因组 DNA 的得率，可将离心得到的溶液再加入吸附柱 CR2 中，室温放置 2 分钟，12,000 rpm( $\sim$ 13,400 $\times$ g)离心 2 分钟。

### 【检验方法的局限性】

- 1、仅适用于【样本要求】中注明的样本类型；
- 2、样本的检测结果与核酸样本的收集、处理、运输和保存等有关，任何操作失误都会导致最终提取的失败。

### 【注意事项】

1. 本产品为体外诊断试剂，仅供体外诊断且为一次性产品。
2. 使用前请仔细阅读说明书，严格按说明书进行操作，超过有效期禁止使用。
3. 试剂避免反复冻融，开启后应尽快使用，不宜长时间存放，出现杂质浑浊请勿使用。
4. 实验人员需经过专业培训，考核合格后方可上岗操作。