

【产品名称】

通用名：核酸提取或纯化试剂

产品编号：IVD3018

【包装规格】

100 份/盒

【预期用途】

本产品适合于从组织、细胞、血液、唾液、拭子等临床样品中快速抽提 DNA。试剂盒基于硅胶柱纯化技术，提取过程中无需使用有毒的酚氯仿抽提，也无需进行耗时的醇类沉淀，整个提取过程只需 30~60 分钟。得到的 DNA 可直接用于 PCR，定量 PCR，Southern Blot，病毒 DNA 检测等实验。

【检验原理】

HiPure Blood & Tissue DNA Kit 基于硅胶柱纯化方式。样品在裂解液(Buffer ATL)和蛋白酶作用下裂解消化，DNA 释放到裂解液中。加入 Buffer 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 Buffer DW1 洗涤蛋白质和其它杂质，经 Buffer DW2 洗涤去除盐分，最后 DNA 被低盐缓冲液(10Mm Tris, pH8.5)洗脱。洗脱的 DNA 可直接用于 PCR、Southern blot、病毒检测等实验。

【样本要求】

1. 样本的采集、运输及保存符合相关操作规范。
2. 血液样品需从枸橼酸钠或 EDTA 抗凝血从采血时开始计算时间，在 2-8℃ 条件下可保存 5 天。抗凝血、血浆、血清在 -20℃ 条件下保存 1 个月以上。避免反复冻融。处理凝固血液时，需用匀浆器进行充分匀浆，充分液化后再操作。

【试剂盒组份】

| 产品编号 | IVD3018 |
|---------------------------|---------|
| HiPure DNA Mini Columns I | 100 |
| 2ml Collection Tubes | 200 |
| Buffer ATL | 80 ml |
| Buffer AL | 80 ml |
| Buffer GW1 | 26 ml |
| Buffer GW2 | 40 ml |
| Proteinase K | 44 mg |
| Protease Dissolve Buffer | 3 ml |
| Buffer AE | 30 ml |

【储存条件及有效期】

本产品除 Proteinase K 外，其它组份可在室温(15~25℃)保存 12 个月。长期保存时需置于 2-8℃。低温下，Buffer ATL 可能会有沉淀形成，需 55℃ 水浴让沉淀完全溶解。Proteinase K 干粉室温运输，收到试剂盒后请保存于 2~8℃ 或 -20℃。溶解后，Proteinase K 需保存于 -20℃。

【准备工作】

无水乙醇(96-100%)

溶解 Proteinase K (20mg/ml)：加入 2.2ml Protease Dissolve Buffer Proteinase K 干粉中，轻轻颠倒让蛋白酶 K 充分溶解。溶解的 Proteinase K 须保存于 -20℃。

Buffer GW1 使用前, 须按瓶子标签所示, 加入无水乙醇进行稀释。

Buffer GW2 使用前, 须按瓶子标签所示, 加入无水乙醇进行稀释。

【操作流程】

A. 固体组织(1~10mg)

1. 把 1~10mg 组织样品剪切成尽量小的碎片, 转移至 1.5ml 离心管中。
2. 加入 **200µl Buffer ATL** 和 **20µl Proteinase K**。55℃振荡温浴 30~120 分钟。
若需去除 RNA, 加入 5µl RNase A 至消化液中混匀后, 室温静置 15 分钟。若消化液比较浑浊或存在未消化物质, 10,000 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 Buffer AL** 至样品中, 高速涡旋混匀 15 秒, 70℃振荡温浴 10 分钟。
4. 加入 **200µl 无水乙醇**至样品中, 高速涡旋混匀 15 秒, 按步骤 5 进行操作。

B. 抗凝血液(200µl)

1. 在 1.5ml 离心管中, 加入 20µl Proteinase K。
2. 转移 **200µl 抗凝血液、血浆、血清**等样品至装有 **Proteinase K** 管子中, 振荡混匀 5 秒。
3. 加入 **200µl Buffer AL** 至样品中, 高速涡旋 **15 秒**。70℃振荡温浴 10 分钟。
4. 加入 **200µl 无水乙醇**至样品中, 高速涡旋 **15 秒**。按 5 步进行操作。

C. 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 Proteinase K。
2. 转移 **500µl 唾液**等样品至装有 **Proteinase K** 的离心管中, 振荡混匀 5 秒。
3. 加入 **500µl Buffer AL** 至样品中, 高速涡旋 **15 秒**。65℃振荡温浴 30 分钟。
4. 加入 **500µl 无水乙醇**至样品中, 高速涡旋 **15 秒**。按 5 步进行操作。

D. 培养细胞

1. 计算细胞数量。1,000 x g 离心 5 分钟收集细胞 (<2x10⁶), 小心吸弃培养液。
2. 加入 **200µl Buffer PBS** 和 **20µl Proteinase K** 至样品中。涡旋 5 秒打散细胞。
若需去除 RNA, 加入 5µl RNase A 至样品中混匀, 室温静置 15 分钟。

3. 加入 **200µl Buffer AL** 至样品中, 高速涡旋混匀 15 秒。65℃振荡温浴 15 分钟。

4. 加入 **200µl 无水乙醇**, 高速涡旋混匀 15 秒。按 5 步进行操作。

E. 拭子 DNA 提取

1. 把拭子转移至 2ml 离心管中。加入 **400µl (棉签或 DacRoN 拭子)或 600µl (Omni 拭子) Buffer ATL** 和 **20µl Proteinase K**, 涡旋混匀。56℃振荡温育 1 小时。
2. 加入 **400µl (棉签或 DacRoN 拭子)或 600µl (Omni 拭子) Buffer AL**, 涡旋 **15 秒混匀**。70℃温浴 10 分钟。
3. 加入 **400µl (棉签或 DacRoN 拭子)或 600µl 无水乙醇**, 涡旋 15 秒混匀。按 5 步进行操作。

过柱纯化

5. 把 HiPure DNA Mini Column I 装在 2ml 收集管中。转移<**750µl** 第四步获得的混合液(包括沉淀)至柱子中。10,000 x g 离心 1 分钟。
6. (可选: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。
7. 弃去废液和收集管。把柱子装在新的收集管中。加入 **500µl Buffer GW1(已用乙醇稀释)**至柱子上。10,000 x g 离心 1 分钟。
8. 倒弃滤液, 把柱子重新装回收集管中。加入 **650µl Buffer GW2(已用乙醇稀释)**至柱子中。10,000 x g 离心 1 分钟。
9. 倒弃流出液, 把柱子重新装回收集管中。10,000 x g 离心 2 分钟。
10. 将柱子装在新的 1.5ml 离心管中。加入 **20~100µl 预热至 70℃ Buffer 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℃

【注意事项】

1. 本品仅用于体外诊断。
2. 实验前请仔细阅读本说明书。
3. 为了避免样本中任何潜在的生物危险, 检测样品应视为具有传染性物质, 避免接触到皮肤和粘膜。标本操作和处理均需符合相关法规要求: 卫生部《微生物生物医学实验室生物安全通用准则》和《医疗废物管理条例》。

4. 所用过的吸头请打入盛有消毒剂的容器，并与废弃物一起灭菌后方可丢弃。