

核酸提取或纯化试剂说明书

【产品名称】

通用名称：核酸提取或纯化试剂

英文名称：RNA & DNA Extraction Kit

【包装规格】10T/盒&100T/盒&200T/盒

【预期用途】本试剂盒从血清、血浆、全血、菌液、拭子等样本中提取、分离 RNA&DNA，其产物用于后续的临床检测。

【实验原理】本试剂盒采用具有分离作用的磁珠和独特的缓冲液系统，在特定的盐离子浓度和 pH 值条件下，磁珠吸附 RNA&DNA，当条件改变时，磁珠释放 RNA&DNA，达到快速分离纯化 RNA&DNA 的目的。

【主要组成成分】

试剂盒组成	保存	CZ313-10	CZ313-100	CZ313-200
裂解液 (Buffer ABL)	室温	5mL/瓶×1 瓶	30mL/瓶×1 瓶	60 mL /瓶×1 瓶
结合液 (MBD)	室温	5mL/瓶×1 瓶	60mL/瓶×1 瓶	120 mL /瓶×1 瓶
磁珠 (magnetic Beads)	2-8℃	220 μ l/支×1 支	1.1ml/支×2 支	5mL×1 瓶
蛋白酶 K	-20℃	300 μ l/支×1 支	1mL /支×2 支	5mL /瓶×1 瓶
洗液 1(wash1)	室温	10mL/瓶×1 瓶	72 mL/瓶×1 瓶	72 mL/瓶×2 瓶
洗液 2 (wash2)	室温	6mL/瓶×1 瓶	25mL/瓶×1 瓶	25mL/瓶×2 瓶
Elution Buffer	室温	1mL/瓶×1 瓶	15mL /瓶×1 瓶	30mL /瓶×1 瓶
说明书	室温	1 份	1 份	1 份

另需要准备的试剂及注意事项

- 无水乙醇（分析纯）、另需准备 80%无水乙醇。
- 磁珠初次使用时，必须剧烈摇晃 1-2min，使磁珠分散。
- 不同批次试剂不可以混用。

【储存条件及有效期】

蛋白酶 K：-20℃：长期保存，避免反复冻融，融化后 4℃ 保存，并尽快使用；

磁珠悬浮液：2-8℃ 保存；

其它组分：室温保存。

【适用仪器】磁力架或核酸提取仪

【样品要求】

本试剂盒适用于从新鲜或冷冻的全血（用柠檬酸盐，EDTA 或肝素等抗凝剂处理过的血液样品）、血浆、血清、血沉棕黄层，淋巴细胞，无细胞体液等样本中提取总 DNA，包括基因组 DNA、线粒体 DNA 及病毒 DNA。

【使用方法】

实验准备:

使用前, 请按下表准确加入无水乙醇。

表一、洗液 1 (wash1) 加入乙醇

成分	CZ313-10	CZ313-100	CZ313-200
洗液 1 (wash1)	10ml	72ml	72ml×2
无水乙醇	8ml	48ml	48ml×2

表二、洗液 2 (wash2) 加入乙醇

成分	CZ313-10	CZ313-100	CZ313-200
洗液 2 (wash2)	6ml	25ml	25ml×2
乙醇	24ml	100ml	100ml×2

操作步骤:

(磁力架)

1. 向无 RNase、DNase 的 1.5ml 的离心管中, 加入 200 μ l 全血, 然后再加入 20 μ l 蛋白酶 K、200 μ l 裂解液 ABL 涡旋震荡混匀; 56 $^{\circ}$ C 水浴 30 min。
2. 向步骤 1 中加入 400 μ l 结合液 MBD、20 μ l 磁珠, 涡旋震荡 5min。
3. 将离心管放置在磁力架上静置, 磁吸 60 sec, 待磁珠完全吸附时小心移去液体。
4. 将离心管小心从磁力架上取下, 加入 500 μ l 洗液 1 (wash1) 使用前请检查是否已加入指定量的无水乙醇, 涡旋混匀 1min。
5. 放置磁力架上磁吸 60 sec, 待磁珠完全吸附时小心移去液体。
6. 重复步骤 (4.5.) 1 次
7. 将离心管小心从磁力架上取下, 加入 500 μ l 洗液 2 (wash2) 使用前请检查是否已加入指定量的无水乙醇, 涡旋混匀 1min。
8. 放置磁力架上磁吸 60 sec, 待磁珠完全吸附时小心移去液体。
9. 重复步骤 (7.8.) 1 次;
10. 离心管放置磁力架上, 室温晾干 2 min。
11. 将离心管从磁力架上取下, 加入 100 μ l Elution Buffer, 涡旋混匀, 65 $^{\circ}$ C 孵育 2-3 min。
12. 将离心管放置于磁力架上 90 sec, 待磁珠完全吸附时小心转移核酸溶液至新的无 RNase、DNase 离心管中, 并保存-20 $^{\circ}$ C 或进入下一步实验。

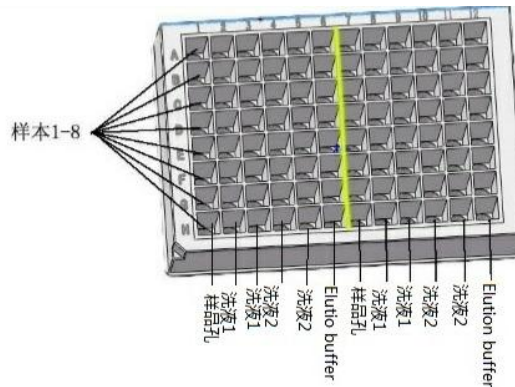
(以核酸提取仪 NP968 (西安天隆科技有限公司) 为例)

1. 试剂分装至 96 孔板中, 按下表将准备好的试剂转移至对应的孔中。

注意: (若为预封装试剂板, 则已经将试剂分装好到 96 孔板, 实验时, 需要瞬离 30sec, 将封口膜上的液体甩下来, 再从 96 孔板的一侧撕开封口膜)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	裂解液	洗液1\ 磁珠	洗液1	洗液2	洗液2	Elution buffer	裂解液	洗液1\ 磁珠	洗液1	洗液2	洗液2	Elution buffer
A	200	500/20	500	500	500	100	200	500/20	500	500	500	100
B	200	500/20	500	500	500	100	200	500/20	500	500	500	100
C	200	500/20	500	500	500	100	200	500/20	500	500	500	100
D	200	500/20	500	500	500	100	200	500/20	500	500	500	100
E	200	500/20	500	500	500	100	200	500/20	500	500	500	100
F	200	500/20	500	500	500	100	200	500/20	500	500	500	100
G	200	500/20	500	500	500	100	200	500/20	500	500	500	100
H	200	500/20	500	500	500	100	200	500/20	500	500	500	100

2. 取 200 μ l 全血样本按照图片所示加入孔 1、7 列, 并对应的加入 20 μ l 蛋白酶 K ,



3. 将准备好的样品板 (注: 已经加入试剂和样品的 96 孔板) 放入提取仪内的卡槽中, 插好磁力套, 关闭仓门,

4. 按照如下表, 编辑、运行提取程序

步骤	槽位	名称	等待时间 (min)	混合时间 (min)	吸磁次数 (times)	混合模式	体积 (μ l)	温度状态	温度 ($^{\circ}$ C)
1	1	lysis	0.1	20	0	变速	420	加热	65
2	2	Trans	0	0	2	变速	500	关闭	0
3	1	Bind	0.1	10	2	中速	820	关闭	0
4	2	W1	0.1	2	2	超速	500	关闭	0
5	3	W1	0.1	2	2	超速	500	关闭	0
6	4	W2	0.1	2	2	超速	500	关闭	0
7	5	W2	0.1	2	2	超速	500	关闭	0
8	6	elute	2	5	3	超速	100	加热	70
9	1	Drop	0.1	1	0	超速	520	关闭	0

5. 程序运行 20 min 左右会暂停, 此时取出样品板并在孔 1、7 加入 400 μ l 结合液 MBD, 将样品板放回提取仪, 继续启动程序。

6. 程序运行完毕, 转移孔 6、12 的 DNA 至新的无 RNase、DNase 离心管中, 并保存 -20° C 或进入下一步实验。

【检验方法的局限性】本试剂盒适用于提取血清、血浆、全血、菌液、拭子类样本，组织类样本不适用于本试剂盒；标准情况下，纯化的 DNA 其 OD260/280 比值在 1.8 和 2.0 之间。但是，当 DNA 浓度低于 10 ng/ μ L 时，偶尔发现该比值会偏离预期。

【检验结果的判定】DNA 纯度：OD260/OD280 \approx 1.7~2.0 (>2.0，表明有 RNA 污染；<1.7，表明有蛋白质、酚等污染)。

【注意事项】

1. 洗液 (wash1、wash2) 中含有易挥发成份，保存时确保瓶盖旋紧。
2. 裂解液 (Buffer ABL) 在低温下容易有晶体析出，请置于 65℃ 水浴溶解。
3. 实验开始前，请清洁工作台，并进行消毒。
4. 试剂使用前应在常温下混匀。

【参考文献】

1. Boom, R., C. J. A. Sol, M. M. M. Salimans, C. L. Jansen, P. M. E. W. Dillen, and J. van der Noordaa. 1990. Rapid and simple method for purification of nucleic acids. *J. Clin. Microbiol.* 28:495 - 503.
2. Chomczynski, P. and N. Sacchi. 1987. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal. Biochem.* 162:156-159.

【基本信息】

企业名称：广州艾基生物技术有限公司

住所：广州市海珠区国际生物岛螺旋三路三期四栋 505

邮政编码：510530 电话号码：020-89115575 传真号码：020-82514208

电子邮箱：market@igebio.com 公司网址：www.igebio.com

售后服务单位名称：广州艾基生物技术有限公司

服务热线：020-89115575 传真号码：020-89115575

电子邮箱：market@igebio.com

生产地址：广州市海珠区国际生物岛螺旋三路三期四栋 505

生产许可证编号/生产备案凭证编号：粤穗械备 20150193