

【产品名称】

通用名称：核酸提取或纯化试剂

商用名称：游离 DNA 富集试剂盒

【预期用途】

本产品适用于从血清/血浆/体液等样品中提取游离 DNA，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 ADL1 和蛋白酶 K 作用下裂解消化，DNA 释放到裂解液中。加入结合液 ADL2 后，转移至柱子中过滤，DNA 被吸附于柱子的膜上，而蛋白质则不被吸附而随溶液滤出。柱子经洗涤液 DCW1 洗涤蛋白质和其它杂质，经洗涤液 DCW2 洗涤去除盐分，最后 DNA 被低盐缓冲液洗脱。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	D3183-01	D3183-02	D3182-03
纯化大柱 CF4	4	10	50
50ml 离心管	4	10	50
CFDNA 吸附柱	4	10	50
2ml 收集管	8	20	100
延长管(Extender Tube)	4	10	50
接头(Vac-Connector)	4	10	50
激活液 KS	3 ml	6 ml	30 ml
消化液 ADL1	20 ml	50 ml	250 ml
结合液 ADL2	20 ml	50 ml	250 ml
洗涤液 DCW1*	4.4 ml	8.8 ml	44 ml
洗涤液 DCW2*	5 ml	5 ml	20 ml
蛋白酶 K	48 mg	120 mg	540 mg
蛋白酶溶解液	1.8 ml	10 ml	30 ml
Carrier RNA	120 µg	120 µg	120 µg
洗脱液 NFW	10 ml	10 ml	40 ml

【储存条件及有效期】

本产品在室温贮存时，有效期 18 个月。

【准备工作】

- 溶解蛋白酶 K: 加入 2.4ml/6ml/27ml 蛋白酶溶解液至瓶子中，溶解后保存于-20~-8℃。
- 使用前，洗涤液 DCW1 按标签所示，加入 5.6ml/11.2ml/56ml 无水乙醇进行稀释。
- 使用前，洗涤液 DCW2 按标签所示，加入 20ml/20ml/80 ml 无水乙醇进行稀释。
- 使用前，结合液 ADL2 按标签所示，加入 20ml/50ml/250ml 异丙醇进行稀释。
- 溶解 Carrier RNA: 加入 0.5ml 洗脱液 NFW 至瓶子中，振荡 3 分钟后保存于-20℃。
- 根据血浆/血清体积计算蛋白酶 K 和消化液 ADL1 和结合液 ADL2 的用量。

实验步骤 (1~5ml)

- 转移 0.1 倍样品体积的蛋白酶 K 至 10~50ml 离心管中。
例：2ml 样品，需要加入 0.2ml 蛋白酶 K。处理 5ml 样品需要加入 0.5ml 蛋白酶 K。
- 转移 1-5 ml 血清、血浆或其它液体样品至装有蛋白酶 K 的离心管中，混匀 5 秒。
- 加入 0.6 倍样品体积的 Buffer ADL1/Carrier RNA(5µl)至样品中，颠倒混匀 6~8 次，55℃水浴 30 分钟，其间颠倒 2-3 次。

优化调整：Buffer ADL1 不同加入量，可以去除不同片段。加入 0.5 倍的 ADL1，纯化大柱 CF4 可以吸附 800bp 以上的片段；加入 0.6 倍的 ADL1，纯化大柱 CF4 可以吸附 600bp 以上的片段；加入 0.7 倍 ADL1，可以吸附 500bp 以上的片段，1 倍可以吸附 350bp 以上的片段。DNA 分选效果受样品和 DNA 片段分布方式影响，建议进行预实验测试 0.5/0.6/0.7/1 倍 ADL1 用量，根据结果选用合适的 ADL1 用量以达到最佳的效果。若只需要去除细胞基因组 DNA 的污染，只需要加入 0.5 倍 ADL1 就可以高效去除大于 1kb 以上的 DNA 污染。

Carrier RNA 可以选择性加入，若下游应用对 qubit 定量准确度高时，可以不加入 Carrier RNA。

4. 把纯化大柱 CF4 装在 50ml 离心管中，加入 0.5ml Buffer KS，放置 3 分钟，3000~5000 × g 离心 3 分钟。
5. 倒弃废液，把离心管反扣于吸水纸上轻轻拍打吸尽全部废液，并把柱子放回 50ml 离心管中。
6. 把第三步的消化液全部转移至柱子中，4000~5000 × g 离心 3 分钟，弃去柱子，保存滤液。
7. 加入等倍滤液体积的 Buffer ADL2 至滤液中，颠倒混匀 6~8 次，冰上放置 5 分钟。
8. 把接头插到抽滤盒中，把 CFDNA 吸附柱和延长管套在一起，并插到接头中。
9. 把第 7 步获得的混合液倒入至 CFDNA 吸附柱子中。打开真空泵进行抽滤，抽滤完毕，关闭真空泵，让压力下降为零。[真空泵压力需要达到 0.6MPa 以下]
10. 把延长管从柱子中取出并丢去。
11. 加入 900μl 洗涤液 DCW1 至柱子中，打开真空泵进行抽滤。抽滤完毕后关闭真空泵，让压力下降为零。
12. 加入 900μl 洗涤液 DCW2 至柱子中，打开真空泵进行抽滤。
13. 加入 900μl 无水乙醇至柱子中，打开真空泵进行抽滤。抽滤完毕后关闭真空泵，让压力下降为零。
14. 取下柱子套在 2ml 收集管中，13,000 × g 离心 2 分钟。
15. (可选)取出柱子，并打开盖子，放置于 56℃ 烘箱中干燥 10 分钟，或室温放置 30 分钟。
16. 把柱子装在新的离心管中，加入 50~60μl 洗脱液 NFW 或 Low TE (自备)至柱子的膜中央。放置 3 分钟。≥13,000 × g 离心 1 分钟。
17. 丢弃 DNA 结合柱，把 DNA 保存于 -20℃ 或 -80℃。

【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. 核酸回收率：按说明书处理 100ng DNA 样品时，DNA 回收率超过 80%，且 CV 值小于 10%。
3. 短片段回收率：按说明书处理 100bp DNA Marker 时，100bp DNA 片段要超过 80%。

【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。

【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

传真：020-89857862

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

【订购信息】

为减少试剂浪费，多余的试剂可以另外订购耗材。

货号	VD3182-50C	主要成分
游离 DNA 吸附柱	50	纯化柱
收集管	50	塑料管
延长管(Extender Tube)	50	塑料管
真空接头(Vac-Connector)	50	塑料管