

游离 DNA 提取试剂盒说明书 (磁珠法)

使用说明书

Cat#: DC2648LM/DC2696LM

产品名称

游离 DNA 提取试剂盒 (磁珠法)

包装规格

包装规格: 48 次/盒, 96 次/盒

预期用途

用于血浆游离 DNA 的提取、富集、纯化等步骤。其处理后的产物用于临床体外检测使用。

检验原理

本品根据磁珠特异性吸附、释放核酸的原理实现核酸的纯化与分离。本品主要原理如下:

1. 使用磁珠吸附核酸并与蛋白质分离。
2. 洗涤液去除残留在磁珠上的蛋白质及其它杂质。
3. 洗脱液将纯化的核酸 (DNA) 从磁珠上洗脱至溶液中。

主要组成成分

规格	(2 mL*48 preps)	(2 mL*96 preps)
蛋白酶 K	5 mL	10 mL
裂解液	5 mL	10 mL
结合液	125 mL	2*125 mL
洗涤液 I	100 mL	200 mL
洗涤液 II	100 mL	200 mL
洗脱液	5 mL	10 mL
磁珠	3 mL	6 mL

储存条件及有效期

核酸提取或纯试剂于 4°C~30°C 避光保存，有效期 12 个月；

2~35°C 运输，运输时间不超过 7 天；

样本需求

1. 适用样本类型：新鲜或冷冻的血浆；
2. 样本处理与保存：新鲜样本应尽快处理或 -20°C 冻存，避免反复冻融；
3. 样本运输：应采用冰壶或者泡沫箱加冰或干冰密封运输；

检验方法

1. 将血浆样本平衡至室温，按照表 1 所示在离心管中依次加入蛋白酶 K，血浆样本和裂解液，以提取 2 mL 血浆为例，则依次加入 100 μ L 蛋白酶 K、2 mL 血浆和 100 μ L 裂解液，放在 60°C、1200 rpm 恒温金属浴孵育 10 min，如无恒温金属浴，可将离心管涡旋 10 s 后放于 60°C 水浴锅中孵育 10 min，期间每隔 5 min 涡旋振荡 10 s。孵育结束后取出置于室温 10 min 使其冷却。

表 1：不同处理体积样本时试剂配比

	血浆体积				
	1 mL	2 mL	3 mL	4 mL	5 mL
蛋白酶 K (μ L)	100	100	150	150	150
裂解液 (μ L)	50	100	150	200	250
结合液 (mL)	1.25	2.5	3.75	5	6.25
磁珠 (μ L)	30	60	90	120	150

注意：本试剂盒以 2 mL 样本为基础，如果提取其它规格的样本，请按照表 1 中的用量进行增减。

2. 冷却后，按照表 1 加入对应体积的结合液和磁珠，涡旋振荡 1 min，混匀后放在摇床上，速调为 200 rpm 混匀 10 min，使磁珠一直处于悬浮状态。
3. 将离心管放于磁力架上静置，待磁珠吸附到磁力架上，管内液体变澄清后，弃去溶液。
4. 向离心管中加入 1 mL 洗涤液 I，振荡混匀后将液体转移到新的 1.5 mL 离心管中。
5. 将离心管固定于磁力架上静置 1 min，弃去溶液。
6. 向离心管中加入 1 mL 洗涤液 I，振荡混匀后静置 1 min。
7. 将离心管固定于磁力架上静置 1 min，弃去溶液。
8. 向离心管中加入 1 mL 洗涤液 II，振荡混匀后静置 1 min。

- 9.将离心管固定于磁力架上静置 1 min，弃去溶液。
- 10.重复步骤 8~9。
- 11.离心管短暂离心后，将其重新固定于磁力架上用移液器去除管底溶液，开盖室温放置 5~10 min 到磁珠表面有轻微裂痕，若磁珠晾干太慢，可以用金属浴加热到 55°C，放置 3~5 min 加速晾干。
- 12.向离心管中加入 60~100 μL 洗脱液后涡旋振荡使磁珠充分悬浮于洗脱液中，之后将离心管固定于 55°C、1200 rpm 金属浴上，振荡洗脱 5~10 min。结束后瞬时离心，降温到室温。
- 13.将离心管固定于磁力架上静置 2 min，待磁珠完全吸附于离心管侧壁后，将洗脱液转移至新的离心管中备用或-20°C冻存。

检验结果的解释

对结果产生影响的因素有：样本的质量、实验环境、实验操作等。若遇到提取所得核酸不符合性能指标或达不到下一步检测要求，需要从以上因素中排查原因。

检验方法的局限性

本品仅能用于从新鲜或冷冻的血浆中提取高质量的游离 DNA。

产品性能指标

1.外观：溶液应澄清透明、无可见杂质；标签标识字迹清晰、内容完整。

2.产量

游离 DNA 提取试剂盒(磁珠法)从 2000 μL 体积的样本中提取得到的 DNA 的总质量应达到 20 ng 以上。

3.核酸纯度

由于游离 DNA 浓度大多小于 1 ng/ μL ，浓度低于紫外分光光度法检测下限，因而采用芯片电泳方法检测游离 DNA 的纯度与完整度。判断标准：主峰单一，无杂峰，无大片段污染峰，说明游离 DNA 的纯度高。

4.完整度

提取核酸时，应能防止物理因素（剪切力、高温）、化学因素（强酸、强碱）和生物因素（核酸酶）破坏，保持核酸一级结构完整而不发生改变的程度。判断标准：主峰单一，无杂峰，无大片段污染峰，说明游离 DNA 的完整度好。

5.重复性

重复性条件下，核酸提取产量、纯度和完整度的精密度， RSD_r 检测结果应 $\leq 5\%$ 。

6.再现性

重复性条件下，核酸提取产量、纯度和完整度的精密度， RSD_R 检测结果应 $\leq 5\%$ 。

7.批间差异

重复性条件下，核酸提取产量、纯度和完整度的精密度， RSD_b 检测结果应 $\leq 5\%$ 。

注意事项

1. 实验室生物安全：如被处理样本中含致病性活病毒等，应遵守国家有关实验室生物安全规范的要求。
2. 核酸回收量少的主要原因及对策：
 - 2.1 样本在采集、运输和保存过程中反复冻融导致 DNA 降解，应尽量减少反复冻融次数或采集时将样本分装多份保存。
 - 2.2 核酸酶对 DNA 有降解作用，应保证所有试验材料经高压灭菌或为一次性无核酸酶产品。
 - 2.3 检查操作过程是否按照本说明书要求进行操作，检查试剂是否在有效期内。

标识的解释

无

参考文献

无

基本信息

备案人/生产企业名称：蓝景科信河北生物科技有限公司

备案人/生产企业住所：河北省保定市徐水区徐水经济开发区法治街 1 号云致科技谷 B10 栋

联系方式：0312-5031216

售后服务单位名称：蓝景科信河北生物科技有限公司

生产地址：河北省保定市徐水区徐水经济开发区法治街 1 号云致科技谷 B10 栋

说明书核准及修改日期 核准日期 2024 年 02 月 22 日