

### 【产品名称】

通用名称：核酸提取或纯化试剂

商用名称：柱法通用 RNA 提取试剂盒

### 【包装规格】

50 人份 (货号 IVD4121), 20 人份 (货号 IVD4121-20, 测试)

### 【预期用途】

本产品适用于从各种临床样本中提取高纯度的 RNA (含 miRNA), 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 RTL 和蛋白酶 K 作用下裂解消化, DNA/RNA 释放到消化液中。过滤去除 DNA 后, 加入乙醇后, RNA 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。柱子经洗涤液 RWC 洗涤蛋白质和其它杂质, 经洗涤液 RW2 洗涤去除盐分, 最后 RNA 被低盐缓冲液洗脱液 NFW 洗脱。

### 【主要组成成份】

货号	IVD4121-20 测试	IVD4121	主要成分
DNA 吸附柱	20	50	纯化柱
RNA 吸附柱	20	50	纯化柱
收集管	40	150	塑料管
蛋白酶 K	12 mg	24 mg	重组蛋白酶 K
蛋白酶溶解液	1.8 ml	1.8 ml	甘油/Tris/CaCl <sub>2</sub>
DNase I	600 $\mu$ l	600 $\mu$ l	牛胰脱氧核糖核酸酶
DNase Buffer	6 ml	6 ml	Tris/CaCl <sub>2</sub>
消化液 RTL	15 ml	30 ml	异硫氰酸胍
消化液 RDB(RNA Digestion Buffer)	5 ml	15 ml	异硫氰酸胍
洗涤液 RWC*	10 ml	20 ml	异硫氰酸胍
洗涤液 RW2*	10 ml	25 ml	Tris/NaCl
洗脱液 NFW	10 ml	10 ml	DEPC 处理水

### 【储存条件及有效期】

本产品室温下运输, 收到产品后, 把蛋白酶 K 和 DNase I 保存于-20°C。其它组份保存于室温, 有效期 18 个月。

### 【准备工作】

- 溶解蛋白酶 K: 加入蛋白酶溶解液至瓶子中, 溶解后保存于-20~-8°C。
- 使用前, 洗涤液 RWC/洗涤液 RW2 按标签所示, 加入适量的无水乙醇进行稀释。
- (可选) 按 1ml 消化液 RTL 加入 20ul 1M DTT (二硫苏糖醇)。DTT 有利于提升消化液的变性能力。该混匀液可以在室温放置 1 周。

### 第一部分：样品的裂解和消化

- 组织:** 取不超过 20mg 组织, 加入 450~500 $\mu$ l 消化液 RTL 进行充分匀浆, 按第二部分进行操作。
- 穿刺组织:** 加入 400 $\mu$ l 消化液 RTL 至样品管中, 用移液枪反复吸打数次, 按第二部分进行操作。
- 悬浮细胞(不超过 5x10<sup>6</sup>):** 取适量培养液, 500 x g 离心 10 分钟收集细胞, 彻底去除培养基。涡旋松散细胞, 加入 400 $\mu$ l 消化液 RTL 至样品中, 用移液枪吸打数次, 按第二部分进行操作。
- 贴壁细胞:** 彻底吸去培养基, 加入 450~500 $\mu$ l 消化液 RTL, 用移液枪吸打数次让细胞脱落, 转移 400 $\mu$ l 消化液 RTL 至 1.5ml 离心管中, 按第二部分进行操作。
- 全血:** 取 0.5-1ml 新鲜血液, 用淋巴细胞分离液或红细胞消化液分离出淋巴细胞, 吸弃溶液后, 余下~20 $\mu$ l 残液, 涡旋打散细胞, 加入 400 $\mu$ l 消化液 RTL, 用移液枪反复吸打数次, 按第二部分进行操作。
- 骨髓:** 取~50 $\mu$ l 骨髓, 加入 400 $\mu$ l 消化液 RTL, 用移液枪反复吸打数次, 按第二部分进行操作。
- Paxigene Tube/RNAsafer LS Reagent 保存的血液:** 在 2ml 离心管中, 加入~2ml 含血液的保存液, 于 12,000 x g 离心 3 分钟, 弃上清; 加入 1ml DEPC 处理水, 涡旋 15 秒, 于 12,000 x g 离心 3 分钟, 弃上清; 短暂离心吸尽残液。加入 400 $\mu$ l 消化液 RTL 至样品中, 涡旋打散沉淀, 按第二部分进行操作。
- Trizol/MagZol Reagent 前处理:** 按 Trizol/Magzol Reagent 流程, 对样品进行匀浆裂解, 加入氯仿抽提离心后取 500 $\mu$ l 上清液, 按第二部分进行操作第 4 步进行操作。

## 第二部分：过柱纯化

### A: 动物 / 细胞类样品快速提取(>200nt RNA):

1. 把 DNA 吸附柱装在收集管中。转移消化液至 DNA 吸附柱中。14,000 × g 离心 1 分钟。
2. 加入等倍体积洗涤液 RW2 至滤液，涡旋混匀 10 秒。
3. 按第 4 步过柱纯化。

### B: Trizol/MagZol Reagent 处理的上清

1. 转移 0.5ml Trizol/MagZol Reagent 氯仿抽提后的上清液至 1.5ml 离心管中。
2. 加入 0.5 倍或 1.5 倍体积无水乙醇至滤液或氯仿抽提后的上清液(Trizol 法)，涡旋混匀 10 秒。

提取 mRNA 时，加入 0.5 倍体积的无水乙醇，能有效去除小于 200nt 的 5SRNA 和 tRNA，提高 RNA 的纯度；若需提取总 RNA（包括 miRNA），加入 1.5 倍体积的无水乙醇至上清液中。

3. 按第 4 步过柱纯化。

### C: 肌纤维类和小分子 RNA 提取

1. 转移第一部分准备好的 400µl 消化液至 1.5ml 离心管中。加入 200µl 消化液 RDB 和 20µl 蛋白酶 K，涡旋混匀，55℃ 振荡温育 10~15 分钟。室温下，14,000 × g 离心 3 分钟。
2. 把 DNA 吸附柱装在收集管中。转移上清液至 DNA 吸附柱中。14,000 × g 离心 1 分钟。  
若需提取 DNA，取 DNA 吸附柱，按 9-13 步进行操作。
3. 加入 0.5 倍或 1.5 倍体积无水乙醇至滤液，涡旋混匀 10 秒。  
提取 mRNA 时，加入 0.5 倍体积的无水乙醇，能有效去除小于 200nt 的 5SRNA 和 tRNA，提高 RNA 的纯度；若需提取总 RNA（包括 miRNA），加入 1.5 倍体积的无水乙醇至滤液或上清液中。
4. 把 RNA 吸附柱装在收集管中，转移 ≤750µl 混合液至柱子中，12,000 × g 离心 30~60 秒。
5. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中，转移剩余的混合液至柱子，12,000 × g 离心 30~60 秒。
6. 倒弃滤液，把柱子装回收集管，加入 350µl 洗涤液 RWC 至柱子上，12,000 × g 离心 60 秒。
7. 把 RNA 吸附柱装在新的收集管中，按下表配制 DNase I 反应液并混匀，把 DNase I 反应液加到 RNA 柱的膜中央，室温(15-30℃)静置 15 分钟。

成分	用量
DNase Buffer	80 µl
DNase I (20 Units/µl)	10 µl

8. 加入 500µl 洗涤液 RWC 至柱子上，静置 5 分钟。12,000 × g 离心 30~60 秒。
9. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中，加入 500µl 洗涤液 RW2，12,000 × g 离心 30~60 秒。
10. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中，加入 500µl 洗涤液 RW2，12,000 × g 离心 30~60 秒。
11. 倒弃流出液，把柱子装回收集管中。12,000 × g 离心 2 分钟。
12. 将柱子转移至 1.5ml 离心管，加入 30~100µl 洗脱液 NFW 至柱子膜中央。室温静置 2 分钟。
13. 12,000 × g 离心 1 分钟，弃去柱子，把 RNA 保存于 -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. 核酸纯度：按说明书处理 5mg 肝脏样品，检测时，OD260/280 值在 1.8-2.0，A260/230 在 1.5-2.0，且 CV 值小于 10%。
3. 核酸产量：根据说明书提取 5mg 肝脏样品时，检测时，产量在 15~30ug，且 CV 值小于 15%。
4. 核酸完整性：根据说明书提取 5mg 肝脏样品时，取 1ug RNA 产物电泳时，RNA 不降解。

### 【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 粤穗械备 20150062 号