

血浆游离 DNA 提取试剂盒（柱提法）说明书

【产品名称】

通用名称：血浆游离 DNA 提取试剂盒（柱提法）

【包装规格】

50 次/盒

【预期用途】

用于核酸的提取、富集、纯化等步骤。其处理后的产物用于临床体外检测使用。

本试剂盒主要用于人类血浆游离 DNA 的提取，其处理后的产物用于临床体外检测使用。

【产品原理】

本试剂盒采用可以特异性结合核酸的吸附柱和独特的缓冲液系统，样品裂解后，DNA 在高盐条件下与硅胶膜结合，在低盐、高 pH 值时 DNA 从硅胶膜上洗脱下来。本试剂盒用于从小剂量的血浆中提取游离 DNA，所得游离 DNA 可直接用作 PCR 模板、杂交等分子生物学实验。

【主要组成成分】

编号	名称	规格及数量
1	Buffer 1B	6 mL×1 瓶
2	蛋白酶 K	25 mg×2 管
3	蛋白酶 K Buffer	1.25 mL×2 管
4	Buffer 2A	140 mL×1 瓶
5	Buffer PWA	12 mL×1 瓶
6	Buffer PW2A	20 mL×1 瓶
7	Buffer PE	5.5 mL×1 瓶
8	10 mL 离心管	50 个/包×1 包
9	连接管	50 个/包×1 包
10	吸附柱	50 个/包×1 包
11	收集管	50 个/包×1 包
12	增量管	50 个/包×1 包
13	1.5 mL 离心管	50 个/包×1 包

注：不同批号试剂盒中各组分不可以互换。

【存储条件及有效期】

本试剂盒中不同试剂组分存储条件不同，请按如下条件分别储存：

蛋白酶 K、蛋白酶 K Buffer：-20℃±5℃；其他组分：室温（10℃~30℃），有效期 12 个月。

蛋白酶 K 和蛋白酶 K Buffer 在运输过程中，加冰袋运输，运输时间建议不超过 7 天。

【生产日期和失效日期】

生产日期和失效日期见标签。

【样本要求】

新鲜血液或者 cDNA 保存管分离的血浆。

【自备仪器、试剂及耗材】

1. 真空泵并搭配负压抽提装置
2. 异丙醇
3. 无水乙醇

【使用方法】

实验前准备：

1. 使用前请将所有试剂颠倒混匀数次。
2. 使用前请先检查 Buffer 1B、Buffer 2A 和 Buffer PWA 是否有结晶，若有结晶，使用前加热溶解（温度不超过 60℃）。
3. 吸取 1.25 mL 蛋白酶 K Buffer 加入蛋白酶 K 中，上下颠倒混匀，直至干粉全部溶解，-20℃±5℃ 保存。配制好的蛋白酶 K 勿长时间室温放置，避免反复冻融，以免影响其活性。
4. Buffer PWA 和 Buffer PW2A 在第一次使用时应按试剂瓶标签说明加入对应量的无水乙醇，并及时打钩标记，以免多次加入。

样本前处理：

1. 新鲜血液样本，1200rpm 离心 20min，取上清；
2. 将上一步骤的上清转移至新的离心管中，12000rpm 离心 10min，保留上清血浆；

操作步骤：

1. 取 2mL 血浆，分成 2 管进行如下 2 - 4 步操作；
2. 1 mL 血浆，加 50 μL Buffer 1B，上下颠倒混匀，加 15 μL 蛋白酶 K，涡旋振荡混匀；

3. 加 300 μ L Buffer 2A, 涡旋振荡混匀;
4. 60 $^{\circ}$ C 孵育 30 min, 短暂离心;
5. 取 10 mL 离心管, 加 1.9 mL Buffer 2A; 将上一步骤短暂离心后的 2 管样本合并加入管中, 涡旋振荡混匀; 最后加入 3.2 mL 异丙醇, 上下颠倒数次混匀;
6. 准备连接管、吸附柱、收集管、增量管, 在负压装置上安装连接管、吸附柱、增量管, 将上一步骤样本缓慢倒入增量管中;
7. 打开真空泵两个开关, 调节压力 0.02 MPa, 开启负压, 将吸附柱内的液体抽干 (提取过程是 0.02 MPa, 5 min; 0.04 MPa, 5 min; 0.06 MPa, 5 min; 之后调节到最大负压);
8. 等待样本抽提完毕, 拔除增量管;
9. 吸附柱内加 700 μ L Buffer PWA, 开启负压, 将吸附柱内的液体抽干;
10. 再加 700 μ L Buffer PW2A, 抽提 (重复一次, 共两次 Buffer PW2A);
11. 抽完后, 先关闭真空泵开关, 再拔下吸附柱, 放入收集管中, 进行离心 (12000 rpm, 2 min), 此时调节真空泵压力到 0, 关闭电源;
12. 将离心后的收集管丢弃, 吸附柱放入新的 1.5 mL 离心管中, 置于生物安全柜中等待 10 min;
13. 向吸附柱悬空加入 60~100 μ L Buffer PE, 静候 2~5 min, 12000 rpm 离心 2 min, 丢弃吸附柱, 收集 DNA 于 1.5 mL 管中, 置于 -20 $^{\circ}$ C \pm 5 $^{\circ}$ C 保存或直接使用。

【注意事项】

1. 在试验前应仔细阅读本说明。
2. 不要使用超过有效期的试剂。
3. 不应使用不符合要求的样本。
4. 应由具备专业经验或经培训合格的人员进行操作, 并佩戴手套、口罩等防护用品。
5. 本试剂盒所有试剂均经过特别配制, 随意替换试剂盒中的任何试剂, 都可能影响使用效果, 不同批号试剂盒成分不可相互混用。

【标识的解释】

图形符号	符号标题	符号说明
	怕晒	表示医疗器械需要避开光源
	怕雨	表示医疗器械需要避免潮湿，保持干燥
	体外诊断医疗器械	表示医疗器械为体外诊断医疗器械
	查阅使用说明	表示用户需要查阅使用说明
	向上	表明该运输包装件在运输时应竖直向上

【基本信息】

备案人/生产企业名称：嘉兴允英医学检验有限公司

住所：浙江省嘉兴市南湖区大桥镇汇信路 153 号研发车间楼第三层

联系方式：0573-83108883

售后服务单位：嘉兴允英医学检验有限公司

联系方式：0573-83108883

生产地址：浙江省嘉兴市南湖区大桥镇凌公塘路 3556 号 5 号楼-2

生产备案编号：浙嘉药监械生产备 20160011 号

【医疗器械备案凭证编号/产品技术要求编号】

浙嘉械备 20200187 号

【说明书批准日期及修改日期】

批准日期：2020 年 11 月 04 日

修改日期：2024 年 03 月 12 日