

病毒核酸(DNA/RNA)提取试剂盒（柱式法）使用说明书

【预期用途】

病毒核酸(DNA/RNA)提取试剂盒（柱式法）用于从少量人或动物体液（包括血浆、血清、滑膜液、脑脊液、胸水、腹水和尿液等）中分离纯化病毒核酸包括病毒 DNA 和 RNA。

【检验原理】

裂解吸附液和蛋白酶 K 使血浆（血清）或体液中病毒裂解并释放出核酸，在裂解吸附液高盐低 pH 的环境下，吸附柱中的硅胶膜高效吸附释放的核酸。吸附柱洗涤后去除蛋白等污染物，在洗脱液低盐高 pH 值的情况下，硅胶膜释放吸附的病毒核酸，从而达到快速分离纯化病毒核酸的目的。

【试剂盒组成、贮藏及有效期】

产品编号	组成成分	50T	100T	200T
MDT-VN01	裂解吸附液 V	20mL×1 瓶	40mL×1 瓶	80mL×1 瓶
	蛋白酶 K	500μL×1 支	1mL×1 支	2mL×1 支
	RAW1 缓冲液	12mL×1 瓶	24mL×1 瓶	48mL×1 瓶
	吸附柱（含收集管）	50 支	100 支	200 支
	洗脱液 B	3mL×1 瓶	6mL×1 瓶	12mL×1 瓶
	使用说明书	1 份	1 份	1 份

蛋白酶 K: 常温（10-30℃）运输，-20℃保存；

其他成分: 常温（10-30℃）运输保存。有效期 1 年。

【注意事项】使用前务必认真阅读以下注意事项

1. 提前配制 RAW1，RAW1 中乙醇含量低于 60%会影响提取效果。
2. 提前配制 80%乙醇水溶液，乙醇水溶液中乙醇含量低于 80%会影响提取效果。
3. 洗脱液的使用量太少会影响提取效果。
4. 本试剂盒在有效期内不同批号试剂可以互换。
5. 虽然本产品无氯仿、苯等 OSHA 规定的危险物品，但操作时最好做好必要的防护措施，戴口罩手套，并且在通风的生物安全柜中进行。
6. 按当地法律法规处理生物样本和废弃物。

【样本要求】

- ① 血浆或血清：随机抽取全血，分离血清；用 EDTA 抗凝的全血分离血浆。滑膜液、脑脊液、胸水和腹水等样本根据需要用 EDTA 抗凝。
- ② 样本尽快检测，超过 2 小时使用时需要保存于 2-8℃，保存时间不超过 72 小时。长期使用的样本需-70℃保存。
- ③ 溶血和脂血对提取无影响。

【自备器械和试剂】

小型高速离心机（最大离心力 $\geq 12,000 \times g$ ）、带振荡功能的金属浴、1.5mL 离心管和无水乙醇等。

- **RAW1 配制：**RAW1 缓冲液使用前按照瓶身标签说明加入相应量的无水乙醇，使乙醇含量为 60%，混匀后密封常温保存。
- **80%乙醇水溶液配制：**1 份水加入 4 份无水乙醇，配制成 80%乙醇水溶液，混匀后密封常温保存。
- **裂解吸附液 A 配制：**使用前按标本数吸取相应体积的裂解吸附液 V，每 400 μ L 裂解吸附液 V 中加入 10 μ L 蛋白酶 K，闭盖，3,000rpm 振荡混匀 15 秒，瞬时离心，配成裂解吸附液 A。

【标准操作步骤】

1. **样本制备**：取新鲜体液样本，12,000×g 离心 5 分钟，吸取上清。短期使用，4℃保存；长期使用，-70℃保存。

2. 在 1.5mL 离心管中加入 400μL 裂解吸附液 A 和 200μL 制备好的样品，60℃金属浴 1,500rpm 振荡 10 分钟。

▶冷冻的体液样本使用前平衡至室温。

3. 将取出离心管，瞬时离心。将吸附柱放入收集管中，转移所有液体至吸附柱，闭盖 12,000×g 离心 1 分钟。取出吸附柱，弃去收集管中的废液，将吸附柱重新放入收集管中。

▶转移液体时，避免液体接触吸附柱的管口。

4. 开盖，在吸附柱中加入 600μL RAW1，闭盖 12,000×g 室温离心 20 秒。取出吸附柱，弃去收集管中的废液，将吸附柱重新放入收集管中。

▶加入 RAW1 时，避免 RAW1 接触吸附柱的管口。

5. 开盖，在吸附柱中加入 600μL 80%乙醇水溶液，闭盖 12,000×g 室温离心 20 秒。取出吸附柱，弃去收集管中的废液，将吸附柱重新放入收集管中。

6. 开盖，在吸附柱中加入 600μL 无水乙醇，闭盖 12,000×g 室温离心 20 秒。取出吸附柱，丢弃收集管，将吸附柱放入新的离心管中。

7. 闭盖 12,000×g 室温离心 3 分钟。取出吸附柱，丢弃离心管。

8. 将吸附柱转入新的 1.5mL 离心管中，开盖，加入 50μL 洗脱液 B 至吸附柱中心。闭盖室温静置 3 分钟，12,000×g 离心 1 分钟，收集洗脱液，备用。

▶洗脱液 B 的使用量可以根据需要调整，但不得低于 30μL。

【病毒核酸提取（柱式法）常见问题解答】

常见问题	原因	解决方案
未提取到病毒核酸或产量低	1.全血使用 EDTA 以外的抗凝剂抗凝	其他抗凝剂可能加速病毒核酸的降解。使用 EDTA 抗凝剂抗凝的血液,对新样品重新纯化。
	2.样本使用量过少	增加样本使用量。
	3.样本保存不当	内源性核酸酶导致游离病毒核酸降解。样本保存温度不当或保存时间过长。采用新鲜、适当保存的样本。
	4.样本反复冻融	避免样本反复冻融,分装保存。
	5.样本裂解不充分	蛋白酶 K 失活。使用新鲜蛋白酶 K。
	6. 洗液 RAW1 中乙醇添加比例不当	使用无水乙醇配制 RAW1,使乙醇含量达 60%。
	7. 含 80%乙醇的 AW2 配制不当	使用无水乙醇配制 80%AW2,乙醇含量达 80%。
	8.洗脱不当	洗脱液加至膜中央,适当减少洗脱体积,可 65°C 预热洗脱液、延长室温静置时间或者进行二次洗脱。
gDNA 污染	1. 抽血过程中白细胞遭到破坏,基因组 DNA 释放到血浆	重新抽血,避免白细胞遭到破坏。
	2. 从抽血到血浆/血清制备之间时间过长,基因组 DNA 释放到血浆	抽血后尽快分离血浆。
	3.血浆/血清制备时离心时间或速度不够,有核细胞未彻底去除	增加离心时间或速度。
纯度低	1.盐离子残留	避免 RAW1 接触吸附柱上下口。
	2.乙醇残留	最后一次洗涤后,吸附柱闭盖 12,000×g 离心 3 分钟。

【说明书编制日期】 2024 年 01 月 25 日

【基本信息】

企业名称: 无锡迈德泰克生物医药有限公司

公司地址: 江苏省无锡市惠山经济开发区惠山大道 1699 号生命科技产业园 C5 楼 C50206 室

网 址: www.wuxi-medtech.com

联系电话: 173 1562 0564 (微信同号); 138 6175 7779 (微信同号)