



## 核酸提取试剂使用说明书

### 【产品名称】

产品通用名称：核酸提取试剂

产品商用名称：血液RNA小量抽提试剂盒

### 【包装规格】

ST1002（50次）

### 【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。

### 【检验原理】

本试剂盒为我公司血液 RNA 保存管（货号：ST1001）的配套试剂。血液 RNA 保存管中的试剂是直接全血中提取总 RNA 的试剂，在裂解细胞时能保持 RNA 的完整性。然后加入氯仿，涡旋混匀进行离心，样品分成水样层和有机层。RNA 存在于水样层中。收集上面的水样层后，RNA 在高离序盐状态下选择性吸附于离心柱内硅基质膜，再通过一系列快速的漂洗—离心的步骤，去蛋白液和漂洗液将细胞代谢物、蛋白等杂质去除，最后低盐的 RNase free water 将纯净 RNA 从硅基质膜上洗脱。

### 【主要组成成分】

试剂盒由漂洗液，洗脱液，使用说明书和合格证组成。主要组分及储存条件见表 1。

试剂盒组成	保存	50次 (ST1002)
漂洗液 RW	室温	15 ml
去蛋白液 RE	室温	30 ml
70%乙醇	室温	9 ml
RNase-free 吸附柱 RA	室温	50 个
收集管 (2ml)	室温	50 个

RNase-free H <sub>2</sub> O	室温	10 ml
--------------------------------	----	-------

注：每瓶试剂的含量 应不少于标示值。

### 【储存条件及有效期】

- 1、产品未开启使用，可在室温下储存至标示有效期末；
- 2、漂洗液和 70%乙醇在加入指定量无水乙醇后，可在 4℃ 储存至标示有效期末。
- 3、为了避免各种试剂长时间暴露于空气中发生挥发、氧化、pH 值变化，各溶液使用后应及时盖紧盖子。

### 【适用仪器】

本产品可适用于高速冷冻离心机。

### 【样本要求】

血液 RNA 保存管中保存得当的全血样品。

### 【检验方法】

- 1、第一次使用前请先在漂洗液瓶中和 70%乙醇瓶中加入指定量乙醇！
- 2、将血液 RNA 保存管恢复至室温(建议 4° C 解冻,而后恢复室温,防止保存管破裂),充分混匀后取 1-1.6ml 混合液加入离心管中,室温放置 10min。
- 3、加入 0.2ml 氯仿,剧烈振荡 15s,在室温下孵育 3min。
- 4、4℃ 12,000 rpm 离心10min,样品会分成三层:下层有机相,中间层和上层无色的水相,RNA 存在于水相中。
- 5、加入 1 倍体积 70%乙醇(请先检查是否已加入无水乙醇!),颠倒混匀(此时可能会出现沉淀)。得到的溶液和可能沉淀一起转入吸附柱 RA 中(吸附柱套在收集管内)。
- 6、10,000rpm 离心 45 秒,弃掉废液,将吸附柱重新套回收集管。
- 7、加入 500 μ l 漂洗液 RE,12,000 rpm 离心 60 秒,弃掉废液。
- 8、加入 600 μ l 漂洗液 RW((请先检查是否已加入无水乙醇!)),12,000 rpm 离心 60s,弃掉废液。
- 9、重复步骤 8。
- 10、将吸附柱 RA 放回空收集管中,12,000 rpm 离心 2min,尽量除去漂洗液,以免漂洗液中残留乙醇抑制下游反应。
- 11、取出吸附柱 RA,放入一个 RNase-free 离心管中,根据预期 RNA 产量在吸附膜的中间部位加 50-80 μ l RNase-free water (事

先在 65-70℃水浴中加热效果更好), 室温放置 2 分钟, 12, 000 rpm 离心 1 分钟。洗脱体积越大, 洗脱效率越高, 如果需要 RNA 浓度较高, 可以适当减少洗脱体积, 但是最小体积最好不少于 30  $\mu$  l, 体积过小降低 RNA 洗脱效率, 减少 RNA 产量。

## 12、【产品性能指标】

### 1.pH 值:

在 25℃ $\pm$ 2℃条件下测定, 以下五种组分的 pH 值需满足下表要求:

组份名称	PH 值
漂洗液 RW	7.0~8.0
去蛋白液 RE	7.0~8.0
70%乙醇	7.0~8.0
RNase-free 吸附柱 RA	50 个
收集管 (2ml)	50 个
RNase-free H <sub>2</sub> O	7.0 $\pm$ 0.2

### 2. 核酸提取效果:

每毫升新鲜全血可以得到 8~15 ug 核酸。

## 【注意事项】

- 1、客户需自备乙醇。
- 2、实验中涉及耗材均应经过无酶处理。

### 预防RNA酶污染:

在抽提RNA过程中任一环节的不正确操作都可能导致RNA酶的污染。由于RNA酶的活性很难完全抑制, 预防其污染是十分必要的。在实际的操作中应遵循以下指南:

\* 全程佩戴一次性手套。皮肤经常带有细菌和霉菌, 可能污染RNA的抽提并成为RNA酶的来源。培养良好的微生物实验操作习惯预防微生物污染。

\* 使用灭菌的, 一次性的塑料器皿和自动吸管抽提RNA, 避免使用公共仪器所导致的RNA酶交叉污染。例如, 使用RNA探针的实验室可能用RNA酶A或T1来降低滤纸上的背景, 因而某些非一次性的物品(如自动吸管)可能富含RNA酶。

\* 在血液RNA保存液中, RNA是隔离在RNA酶污染之外的。而对样品的后续操作会要求用无RNA酶的非一次性的玻璃器皿或塑料器皿。玻璃器皿可以在150℃的烘箱中烘烤4小时。塑料器皿可以在0.5 M NaOH中浸泡10分钟, 用水彻底漂洗干净后高压灭菌备用。

3、其他试剂室温保存，管盖一定要拧紧，否则易造成溶液挥发，影响提取效果。

### 【参考文献】

[1] Jeanette Aarem<sup>1</sup>, Gunnar Brunborg<sup>1</sup>, Kaja K. Aas<sup>1</sup>, Kari Harbak<sup>1,2</sup>, Miia M. Taipale<sup>1</sup>, Per Magnus<sup>1</sup>, Gun Peggy Knudsen<sup>1</sup> and Nur Duale<sup>1\*</sup>

Comparison of blood RNA isolation methods from samples stabilized in Tempus tubes and stored at a large human biobank

Aarem et al. BMC Res Notes (2016) 9:430

DOI 10.1186/s13104-016-2224-y

[2] 焦孟浩，彭真，王闯等.从血液总 RNA 提取方法的比较。塔里木大学学报，文章编号：1009-0568（2014）01-0046-04.

### 【生产企业】

企业名称：无锡百泰克生物技术有限公司

注册地址：无锡惠山经济开发区惠山大道 1719-5 号四层 A 区

生产地址：无锡惠山经济开发区惠山大道 1719-5 号四层 A 区

邮政编码：214174

电话/传真：0510-83212853

网址：[www.bioteke.com](http://www.bioteke.com)

### 【医疗器械生产备案编号】