

核酸提取或纯化试剂说明书

【产品名称】

通用名称：核酸提取或纯化试剂

英文名称：QIAamp DSP Virus Spin Kit

【包装规格】

50 人份/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。

【检验原理】

概要和说明

核酸提取或纯化试剂采用成熟技术，可同时纯化病毒 DNA 和 RNA。本试剂盒结合了具有选择性吸附特性的硅胶膜技术与灵活的洗脱体积，手动提取洗脱体积可在 20 至 150 μ l 间灵活选择，自动化提取可在 60 至 100 μ l 间灵活选择。实验步骤适用于血浆和血清样品。样品可以是新鲜的或冷冻的，但前提是冻融不能超过一次。病毒核酸被洗脱到 AVE 缓冲液中，可立即用于扩增反应或-20 $^{\circ}$ C 下储存。

操作过程原理

核酸提取或纯化试剂操作过程包括 4 个步骤：裂解、结合、洗涤、洗脱，使用 QIAamp MinElute[®]离心柱和标准微量离心机进行操作，或可使用全自动核酸提取纯化仪 QIAcube Connect MDx 进行全自动分离纯化。本操作过程的设计旨在尽量减少样品之间交叉污染的可能性，并使其可以安全处理具有潜在传染性的样品。简单的核酸提取或纯化试剂操作步骤适用于多个样品的同时制备。核酸提取或纯化试剂可用于多种 RNA 和 DNA 病毒的核酸分离。但是，对于每种病毒核酸的提取性能特性还未经确定，必须由用户进行验证。

使用全自动核酸提取纯化仪 QIAcube Connect MDx 进行自动病毒核酸纯化

使用核酸提取或纯化试剂进行病毒核酸纯化可以在全自动核酸提取纯化仪 QIAcube

Connect MDx 中全自动完成。每次运行最多可处理 12 份样本。创新的全自动核酸提取纯化仪 QIAcube Connect MDx 采用先进的技术来自动化运行 QIAGEN®离心柱，可在您的实验室工作流程中实现自动化，低通量样品制备的无缝衔接。使用全自动核酸提取纯化仪 QIAcube Connect MDx 样品制备遵循与手动提取相同的步骤（即裂解，结合，洗涤，洗脱），使您能够使用的核酸提取或纯化试剂完成高品质的病毒核酸纯化。

如果使用全自动核酸提取纯化仪 QIAcube Connect MDx 和核酸提取或纯化试剂进行自动提取，可能会由于工作站自动移液产生死体积、蒸发和额外试剂消耗，使得本试剂盒制备少于 50 个样品。QIAGEN 公司只保证使用核酸提取或纯化试剂进行手动提取可完成 50 个样品的制备。

有关自动化步骤的详细信息，可在 www.qiagen.com/MyQIAcube 参阅相关的实验方案表格。最新的实验方案表格可以免费下载获得，也可以通过联系 QIAGEN 公司的技术服务部来获得。



图 1.全自动核酸提取纯化仪 QIAcube Connect MDx

使用 QIAGEN 蛋白酶进行裂解

样品在升高温度的高变性条件下进行裂解。裂解过程在 QIAGEN 蛋白酶和 AL 缓冲液存在的情况下进行，它们共同确保 RNA 酶的失活。

吸附到 QIAamp MinElute 膜

通过添加乙醇来调节结合条件以确保病毒 RNA 和 DNA 与膜的最佳结合。裂解物再转移到一个 QIAamp MinElute 离心柱中，病毒核酸即被吸附到硅胶膜上，裂解物则通过离心去除。调节盐和 pH 值条件以确保那些抑制 PCR 和其他下游酶促反应的蛋白质和其他污染物不会留存在 QIAamp MinElute 膜上。

2mL 清洗管（已提供）可在上柱和清洗步骤中作为 QIAamp MinElute 离心柱的支撑管。

去除残留污染物

核酸仍然结合在膜上，而污染物则在 3 个清洗步骤中被有效地清除。

纯净核酸的洗脱

在一个单一步骤中，高纯度的病毒 RNA 和 DNA 被洗脱至 AVE 缓冲液中，平衡至室温。

使用 AVE 缓冲液进行洗脱。QIAamp MinElute 离心柱允许的手动提取最小洗脱体积为 20 μ l，全自动提取最小洗脱体积 60 μ l。低洗脱体积产生高浓度的核酸洗脱物。

对于需要较小起始体积的下游反应（如 PCR 和 RT-PCR 反应），浓缩度更高的洗脱液能提高分析灵敏度。

对于要求更大起始体积的下游反应，手动提取洗脱体积可增加到 150 μ l，全自动洗脱体积可增加到 100 μ l。但是增加洗脱体积会降低洗脱液中核酸的浓度。

最终获得的洗脱液的体积取决于样品的特点。

洗脱的核酸被收集于 1.5ml 洗脱管（ET，已提供）。可在 2 - 8°C 下最多存放 24 小时。对于超过 24 小时的长期存放，我们建议将纯化的核酸存放在 - 20°C 下从生物样品中分离得到的病毒核酸产量通常低于 1 μ g。推荐使用定量扩增法测定产量。当对使用核酸提取或纯化试剂实验方案分离得到的核酸进行定量时，需注意样品中的载体 RNA 的量可能会比病毒 RNA 还多。

核酸提取或纯化试剂操作步骤



QIAcube ConnectMDx 全自动化操作

载体 RNA

载体 RNA 起到两个作用：首先，它增强了病毒核酸与 QIAamp 膜的结合，尤其是在样品中目标核酸很少的情况下。其次，增加的大量载体 RNA 降低了病毒 RNA 被降解的可能性，在很罕见的情况下，RNA 酶分子能逃脱 AL 缓冲液中高离液盐和去垢剂的变性作用。在此情况下，如果没向 AL 缓冲液中添加载体 RNA，可能会导致病毒 RNA 或 DNA 回收率的降低。

在不同扩增系统的效率变化取决于反应体系中核酸的总量。本试剂盒的洗脱液包含病毒核酸和载体 RNA，载体 RNA 的量将会大大超过病毒核酸量。因此，需要基于添加的载体 RNA 的量对加入下游扩增体系的洗脱液量进行计算。为了在扩增反应中达到最高的灵敏度，可能需要调整加入 AL 缓冲液中的载体 RNA 的量。

额外的内对照



核酸提取或纯化试剂在与市售的扩增系统结合使用中可能需要在纯化步骤中引入内对照。内对照 RNA 或 DNA 应与载体 RNA 一起加入到裂解缓冲液中。为了获得最佳的纯化效果，内对照分子应该长于 200 个核苷酸，因为小分子不能有效地回收。

参阅制造商的说明以确定最佳浓度。使用非推荐的浓度可能会降低扩增效率。

【主要组成成份】

提供的材料

试剂盒组成

核酸提取或纯化试剂			61704
目录号			50 §
制备次数			
QIAamp MinElute	QIAamp MinElute 离心柱与洗涤管 (WT) (2ml)		50
LT	裂解管 (2ml)		50
ET	洗脱管 (1.5ml)		50
WT	洗涤管 (2ml)		5×50
AL	裂解缓冲液*		33ml
AW1	洗涤缓冲液 1* (浓缩液)		19ml
AW2	洗涤缓冲液 2† (浓缩液)		13ml
AVE	洗脱缓冲液† (紫色盖)		4×2ml
PS	蛋白酶溶剂‡		4.4ml
载体	载体 RNA (红盖)		310 µg
QP	QIAGEN 蛋白酶‡		1 瓶
	说明书		1 本

*含有离液盐。操作时应采取适当的安全措施并戴上手套。不可与含漂白剂的消毒剂共同使用。

† 含防腐剂叠氮化钠。

‡ 请参阅“准备试剂和缓冲液”。

§ 如果使用全自动核酸提取纯化仪 QIAcube Connect MDx 和核酸提取或纯化试剂进行自动提取,可能会由于工作站自动移液产生死体积、蒸发和额外实际消耗,使得本试剂盒只能制备少于 50 个样品。QIAGEN 公司只保证使用核酸提取或纯化试剂进行手动提取可完成 50 个样品的制备。

使用者应自备的材料

使用化学品时，应穿戴合适的实验服、佩戴一次性手套和防护眼镜。其他信息，请参照产品供应商提供的材料安全性信息页(MSDSs)。

- 乙醇 (96–100%)*
- 微量移液器†和吸头（为防止交叉污染，我们强烈建议您使用带有气溶胶屏障的吸头）
- 加热块†用于 56°C 下裂解样品
- 微量离心机†（安有适用 1.5ml 和 2ml 管的转子）
- 漩涡混匀器
- 对于<200µl 的样品：0.9%NaCl 溶液
仅适用于自动化程序
- QIAcube Connect MDx†（目录编号 9003070）
- Rotor Adapters（目录编号 990394）
- Rotor Adapter Holder（目录编号 990392）
- Sample Tubes CB（2 ml，目录编号 990382，样本输入管）
- Shaker Rack Plugs（目录编号 9017854）
- Reagent Bottles, 30 ml（目录编号 990393）
- Filter-Tips, 1000 µl（目录编号 990352）
- Filter-Tips, 1000 µl, 宽口（目录编号 990452）
- Filter-Tips, 200 µl（目录编号 990332）
- SafeSeal Tube, 1.5 ml, Sarstedt®（目录编号 72.706）

*不可使用工业酒精，其可能含有其他物质如甲醇或甲基乙酮。

†为了确保样品在核酸提取或纯化试剂试剂盒中进行妥善处理，我们强烈建议按照制造商的建议对工具（例如，微量移液器和加热块）进行校准。

【储存条件及有效期】

QIAamp MinElute 离心柱应在收到时就储存在 2-8℃ 下。

所有缓冲液都可以室温储存（15-25℃）。

冻干载体 RNA 可以室温储存（15-25℃）直到试剂盒上的失效日期。载体 RNA 只能溶解在 AVE 缓冲液中；溶解的载体 RNA 应如所述，立即添加到 AL 缓冲液中。该溶液应新鲜制备，可在 2-8℃ 下保持稳定最多 48 小时。溶于 AVE 缓冲液但未使用的载体 RNA 应分装后置于 -20℃ 冷冻保存。

冻干 QIAGEN 蛋白酶（QP）可以室温储存（15-25℃），试剂盒失效日期之前都不影响其活性。QIAGEN 蛋白酶（QP）在蛋白酶溶剂（PS）中重构后可在 2-8℃ 下稳定储存一年，但仅稳定至试剂盒有效期。应避免将 QIAGEN 蛋白酶原液在室温下长时间存放。

重配的清洗缓冲液 1（AW1）和清洗缓冲液 2（AW2）可以在室温下（15-25℃）稳定储存长达一年，但仅稳定至试剂盒有效期。

有效期：24 个月

【样本要求】

血浆或血清样品在采集和离心后，可以被储存在 2-8℃ 下长达 6 小时。对于长期保存，则建议分装后在 -20℃ 或 -80℃ 下储存。冷冻的血浆或血清样品不能冻融超过一次。反复冻融引起蛋白质的变性和沉淀，从而降低病毒滴度而因此降低病毒核酸产量。此外，在冻融过程中形成的冷凝沉淀会堵塞 QIAamp MinElute 膜。如果可见冷凝沉淀，可以进行约 6800×g 离心 3 分钟将其沉淀。在没有干扰沉淀的情况下，将澄清的上清液取出并立即处理。

【检验方法】

实验开始前的要点

- 收到试剂盒后，检查试剂盒组成是否有损坏。如果气泡包装膜或缓冲液瓶子已损坏，请联系 QIAGEN 技术支持或当地经销商。若发生液体溢出，请参阅“警告和预防措施”进行处理，不要使用损坏的试剂盒成分，因为可能导致试剂盒性能不佳。
- 始终使用无 RNase 的设备。
- 所有液体转移之间均要更换吸头。为了尽量减少交叉污染，我们建议使用含气溶胶屏障吸头。
- 所有离心步骤均应在室温下（15–25℃）完成。

- 始终使用一次性手套，并定期检查，确保没有被样品材料污染。丢弃污染的手套。
- 为了尽量减少交叉污染，每次操作只打开一个管子。
- 不要将其它试剂盒中的成分与本试剂盒混合使用，除非它们批号相同。
- 避免试剂盒试剂受到微生物污染。
- 为了确保处理具有潜在感染性材料时的安全，我们建议在超净工作台中进行操作，直到样品已裂解。
- 本试剂盒仅供训练有素的体外诊断实验室人员使用。

QIAamp MinElute 离心柱的处理

由于核酸扩增技术的高灵敏度，在 QIAamp MinElute 离心柱的操作过程中应注意以下事项以避免样本间的交叉污染。

- 小心将样本或溶液加入到 QIAamp MinElute 离心柱中。移取样本到 QIAamp MinElute 离心柱中，应避免弄湿离心柱缘。
- 所有液体转移之间均要更换吸头。建议使用含气溶胶屏障吸头。
- 避免将吸头接触到 QIAamp MinElute 离心柱的吸附膜上。
- 在所有脉冲漩涡混匀步骤之后，都要将离心管稍做离心以将盖子内部的液滴甩到管内。
- 整个过程要配戴手套。若手套接触到样品，立即更换手套。
- 一次只打开一个 QIAamp MinElute 柱，并注意避免产生气溶胶。

离心

- 所有离心步骤需要用到的洗涤管和洗脱管均已随试剂盒提供。
- 6000×g (8000 rpm)离心 QIAamp MinElute 离心柱以降低离心噪音。全速离心 QIAamp MinElute 离心柱不会影响 DNA 或 RNA 的产量。
- 在洗脱步骤前的最后一次洗涤结束后，应进行全速干燥离心。
- 所有离心步骤均在室温下(15–25°C)完成。

微量离心过程中对 QIAamp MinElute 离心柱的处理

- QIAamp MinElute 离心柱放入微量离心机前应盖紧。按前述方法进行离心。
- 将 QIAamp MinElute 离心柱和洗涤管从微量离心机中取出。
- 将 QIAamp MinElute 离心柱放入新的洗涤管。弃去滤液和洗涤管。请注意，滤液中可能含

有害废物，应适当处理。

■每次仅打开一个 QIAamp MinElute 离心柱，小心操作避免产生气溶胶。


为了高效地平行处理多个样品，推荐您将洗涤管都放在架子上，以便离心后可直接转移 QIAamp MinElute 离心柱。含有过滤液的用过的洗涤管可丢弃，装有 QIAamp MinElute 离心柱的新的洗涤管可直接置于离心机中。

准备试剂和缓冲液

■制备 RNA

在制备病毒 RNA 时，在手动步骤时应快速完成操作，在开始操作之前请阅读附录。■制备 QIAGEN 蛋白酶

将全部 4.4ml 蛋白酶溶剂 (PS) 加入冻干 QIAGEN 蛋白酶 (QP) 小瓶中并仔细混匀。为了避免起泡，上下颠倒小瓶数次混匀。确保 QIAGEN 蛋白酶 (QP) 完全溶解。

 不要将 QIAGEN 蛋白酶 (QP) 直接加入 AL 缓冲液中。*

QIAGEN 蛋白酶 (QP) 在蛋白酶溶剂 (PS) 中重构后可在 2-8°C 下稳定储存一年，但仅稳定至试剂盒有效期。

应避免将 QIAGEN 蛋白酶原液在室温下长时间存放。

■将载体 RNA 加入 AL 缓冲液中 *

向 310µg 冻干载体 RNA 中加入 310µl AVE 缓冲液，得到 1µg/µl 的溶液。彻底溶解载体 RNA，分装为方便大小等分，并将其储存在 -25°C 至 -15°C 下。分装的载体 RNA 不能冻融超过 3 次。

■将载体 RNA 和内部对照品添加到裂解缓冲液 (AL)* (仅用于手动程序)

将 QIAamp DSP Virus Spin Kit 与诊断扩增系统组合使用时，强烈建议使用内部对照品。有关详细信息，请参阅制造商的说明。应将内部对照品和重组载体 RNA 添加到裂解缓冲液 (AL)，然后翻转试管 10 次，将其轻轻混合均匀。为避免起泡沫，避免以旋涡方式混合。如果使用内部对照品，则相应减少裂解缓冲液 (AL) 的体积 (更多详情参见表 1)。请参阅制造商的说明，以确定内部对照品的最佳浓度。不使用建议的浓度可能会产生错误的结果。计算要使用的正确内部对照品量时，请考虑样本的起始量和洗脱体积。请记住 QIAamp DSP

Virus Spin Kit 使用的起始样本容量为 200 μ l。

i 载体 RNA 不溶于 AL 缓冲液。它必须首先被溶解在 AVE 缓冲液中，再加入 AL 缓冲液。

参照表格 1，依据需要同时处理的样品数量计算每批样品所需的 AL 缓冲液-载体 RNA 的混合体积。对于更大数量的样品，混合体积可按照下面示例的公式来计算：

$$n \times 0.22 \text{ ml} = y \text{ ml} \quad y \text{ ml} \times 28 \text{ } \mu\text{l/ml} = z \text{ } \mu\text{l}$$

其中： n =同时处理的样品数量

y= 计算得出的 AL 缓冲液体积

z= 载体 RNA- AVE 缓冲液加入 AL 缓冲液的体积

颠倒试管 10 次轻轻混匀。为了避免起泡，不要旋涡。

*含有离液盐。处理时采取适当的实验室安全措施并戴上手套。不可与含漂白剂的消毒剂共同使用。参见安全性信息。

表格 1 进行核酸提取或纯化试剂提取特定数量样品所需的 AL 缓冲液和载体 RNA- AVE 缓冲液混合液的体积

样本数量	AL 缓冲液体积 (ml)	载体 RNA-AVE 体积 (ml)	样本数量	AL 缓冲液体积 (ml)	载体 RNA-AVE 体积 (ml)
1	0.22ml	6.2ul	13	2.86ml	80.1ul
2	0.44ml	12.3ul	14	3.08ml	86.3ul
3	0.66ml	18.5ul	15	3.30ml	92.4ul
4	0.88ml	24.6ul	16	3.52ml	98.6ul
5	1.10ml	30.8ul	17	3.74ml	104.7ul
6	1.32ml	37.0ul	18	3.96ml	110.9ul
7	1.54ml	43.1ul	19	4.18ml	117.0ul
8	1.76ml	49.3ul	20	4.40ml	123.2ul
9	1.98ml	55.4ul	21	4.62ml	129.4ul
10	2.20ml	61.6ul	22	4.84ml	135.5ul
11	2.42ml	67.8ul	23	5.06ml	141.7ul
12	2.64ml	73.9ul	24	5.28ml	147.8ul

i 样品制备中，每个样品添加 5.6µg 载体 RNA 为优化量。如发现更少的载体 RNA 在您的扩增系统中表现更佳，则只需加入所需量的载体 RNA 到 AL 缓冲液中。对于每次制备所需的载体 RNA 微克数，向每毫升 AL 缓冲液中添加 5µl AVE 缓冲液-载体 RNA 混合液进行配制。对于使用少于 5.6µg 载体 RNA 的样品，必须经过对该种样品和下游分析的验证。对于自动化程序，如上所述在 AVE 中制备载体 RNA（以获得 1 µg/µl 溶液）。下一步，为 QIAcube Connect MDx 提供足够的载体 RNA 溶液，用于所需数量的样本加两个额外的样本。加载过程中所需量会显示于用户界面上。通过 QIAcube Connect MDx 将载体 RNA 添加到裂解缓冲液 (AL) 中。

AW1 缓冲液*

如瓶上所述，向含有 19ml AW1 缓冲液浓缩物的瓶中加入 25ml 乙醇（96-100%）。在标签上的方框内打勾表明已加入乙醇。在室温（15-25°C）下储存重构的 AW1 缓冲液。重构的 AW1 缓冲液可以在室温下稳定储存长达一年，但不超过试剂盒的有效期。

i 在开始操作前均需要震荡摇匀重构的 AW1 缓冲液混合液。

AW2 缓冲液†

如瓶上所述，向含有 13ml AW2 缓冲液浓缩物的瓶中加入 30ml 乙醇（96-100%）。在标签上的方框内打勾表明已加入乙醇。在室温（15-25°C）下储存重构的 AW2 缓冲液。重构的 AW2 缓冲液可以在室温下稳定储存长达一年，但不超过试剂盒的有效期。

i 在开始操作前均需要震荡摇匀重构的 AW2 缓冲液混合液。

核酸的洗脱

洗脱缓冲液在上柱使用之前应平衡到室温条件。

*含有离液盐。处理时采取适当的实验室安全措施并戴上手套。不可与含漂白剂的消毒剂共同使用。参见安全性信息。

† 含防腐剂叠氮化钠。

实验方案：血浆或血清样品的病毒核酸纯化

使用 QIAamp DSP Virus Spin Kit，通过微型离心机或在 QIAcube Connect MDx 上自动从 200 µl EDTA 或柠檬酸盐处理的血浆或血清中纯化病毒核酸。

实验开始前的要点

- 所有离心步骤均应在室温下(15–25°C)完成。
- 本程序提供了单个样本的处理说明。然而，可同时处理多个样本；数量依据所用微型离心机的容量而定。
- 可以在 QIAcube Connect MDx 上自动处理 2–10 或 12 份样本。
- 对于自动化程序，请遵循用户界面 (QIAcube Connect MDx) 上的说明，并参考相应的 QIAcube Connect MDx 用户手册。

实验开始前要做的事情

- 平衡样品至室温 (15–25°C)。
- 使用 QIAamp DSP Virus Spin Kit，通过微型离心机或在 QIAcube Connect MDx 上自动从 200 µl EDTA 或柠檬酸盐处理的血浆或血清中纯化病毒核酸。
- 平衡 AVE 缓冲液至室温以用于步骤 14 中的洗脱。
- 将加热块设置到 56°C 以用于步骤 4。
- 确保 AW1 缓冲液， AW2 缓冲液和 QIAGEN 蛋白酶 (QP) 已根据说明配制。
- 按照说明，将使用 AVE 缓冲液重新配置的载体 RNA 加入 AL 缓冲液中。
- 如果裂解缓冲液 (AL) 中形成了沉淀物，请通过在 56°C 下孵育将其溶解。

操作过程

对于使用微型离心机进行的手动程序，请按照第 1-14 步进行操作。

此操作步骤可以在 QIAcube Connect MDx 上使用两个不同的版本自动执行：

- **Plasma or Serum_Standard** (血浆或血清_标准)：使用 200 µl 样本全自动进行 (从第 1 步开始自动化)
- **Plasma or Serum_Manual lysis** (血浆或血清_手动裂解)：使用 200 µl 体积的初始样本进行非机载手动裂解，实现部分自动化 (从第 5 步开始自动化)

1.吸取 25 μ l QIAGEN 蛋白酶 (QP) 至裂解管 (LT)。

 关于在蛋白酶溶剂 (PS) 中重悬 QIAGEN 蛋白酶 (QP) 的信息, 请参阅“准备试剂和缓冲液”。

2.将 200 μ l 血浆或血清加入裂解管 (LT) 中。

如果样品体积小于 200 μ l, 则加入适当体积的 0.9%氯化钠溶液, 使蛋白酶和样品的总体积为 225 μ l。

3.加入 200 μ l AL 缓冲液 (含 28 μ g/ml 的载体 RNA)。盖上, 通过脉冲涡流混合, 时间 \geq 15 秒。

为确保高效的裂解, 需保证样品和 AL 缓冲液充分混合, 得到均匀的溶液。

 不要将 QIAGEN 蛋白酶 (QP) 直接加入 AL 缓冲液中。*

4.在 56 $^{\circ}$ C 的加热块中孵育 15 分钟。

5.稍微离心裂解管, 将盖子上的液滴离心到管内。

提示: 对于使用微型离心机进行的手动程序, 请按照第 1-14 步进行操作, 则可以自动进行以下步骤 (第 6-15 步): QIAcube Connect MDx 上的“手动裂解方案”。

6.向样品中加入 250 μ l 乙醇 (96-100%), 盖上盖子, 并通过脉冲涡流混匀, 时间 \geq 15 秒。将裂解液和乙醇在室温下 (15-25 $^{\circ}$ C) 孵育 5 分钟。

7.稍微离心离心管, 将盖子上的液滴离心到管内。

8.仔细地将第 7 步所得的裂解物移至 QIAamp MinElute 离心柱上, 不要沾湿边缘。盖上盖子, 约 6000 \times g 离心 $>$ 1 分钟。将 QIAamp MinElute 离心柱移入干净的 2ml 清洗管 (WT), 丢弃含有滤液的清洗管。

离心后如发现裂解液未全部通过离心柱, 则提高离心速度重新离心一次直至 QIAamp MinElute 离心柱中不再有液体残留。

9.轻轻打开 QIAamp MinElute 离心柱, 并加入 500 μ l AW1 缓冲液并避免沾湿边缘。盖上盖子, 约 6000 \times g 离心 \geq 1 分钟。将 QIAamp MinElute 离心柱移入干净的 2ml 清洗管 (WT), 丢弃含有滤液的清洗管。

10.轻轻打开 QIAamp MinElute 离心柱, 加入 500 μ l AW2 缓冲液, 避免沾湿边缘。盖上盖子, 约 6000 \times g 离心 $>$ 1 分钟。将 QIAamp MinElute 离心柱移入干净的 2ml 洗涤管, 丢弃含

有滤液的洗涤管。

11.轻轻打开 QIAamp MinElute 离心柱，加入 500 µl 乙醇（96-100%），避免沾湿边缘。盖上盖子，约 6000×g 离心> 1 分钟。丢弃含有滤液的洗涤管。

乙醇残留到洗脱液中可能会导致下游应用发生问题。某些离心机的转头在减速的过程中会振动，从而引起含有乙醇的滤过液接触到 QIAamp MinElute 离心柱。从转子中取出 QIAamp MinElute 离心柱和洗涤管也可能导致滤过液接触到 QIAamp MinElute 离心柱。

12.将 QIAamp MinElute 离心柱移入干净的 2ml 洗涤管（WT）。全速（约 20000×g）离心 3 分钟，使吸附膜充分干燥。

13.将 QIAamp MinElute 离心柱移入新的 2ml 洗涤管（WT），打开盖子，56℃孵育 3 分钟，使吸附膜完全干燥。

此步骤用于以蒸发任何残留的液体。

14.将 QIAamp MinElute 离心柱移入洗脱管（ET），丢弃含有滤液的洗涤管。轻轻打开 QIAamp MinElute 离心柱的盖子，向吸附膜的中心区域加入 20–150 µl AVE 缓冲液。盖上盖子，室温下孵育≥3 分钟。全速(20000×g)离心>1 分钟。

i 确保已将洗脱缓冲液平衡至室温。如果洗脱体积较小（小于 50µl），则洗脱缓冲液必须加入到吸附膜的中心区域，以保证完全洗脱结合的 RNA 和 DNA。

为避免下游检测收到抑制，请使用新的洗脱管以避免残留的洗涤缓冲液造成污染。

洗脱体积是灵活的，可以根据下游应用的需要进行调整。由于离心后剩余的洗脱缓冲液被离心柱薄膜保留，因此回收的洗脱液体积可能低于施加到柱上的洗脱缓冲液的体积。在全自动提取流程中，洗脱体积可能为 60-100 µl，增量为 5 µl。

对于所有自动化程序，请在运行结束后直接去除仪器上的洗脱液，并妥善保存。

【检验方法的局限性】

该系统的性能已使用人血浆和血清样品的病毒核酸分离进行了验证。

用户的责任是在不被 QIAGEN 性能研究所涵盖的范围内，在其实验室验证任意提取操作的系统性能。

为了将对于诊断结果的负面影响风险最小化，应该对下游应用进行足够的控制。产生的任何 诊断结果必须结合其他临床或实验结论来读解。

【产品性能指标】

关于核酸提取或纯化试剂性能特性信息，请参阅

www.qiagen.com/goto/QIAampDSPVirusSpinPerformance。

质量控制

按照 QIAGEN 的 ISO 认证的质量管理体系，每批核酸提取或纯化试剂均已针对预定的规格进行测试，以确保产品质量稳定可靠。

为了尽量减少对诊断结果有负面影响的风险，下游应用中应使用足够的对照。为了进一步验证，推荐参考在技术规范国际协调委员会 (ICH) 指南中，*ICH Q2 (R1) 分析操作的验证：文本和方法学*。所产生的任何诊断结果的解释必须与其他临床或实验室检查结果相结合。

【注意事项】

用于体外诊断

使用化学品时，应穿戴合适的实验服、佩戴一次性手套和防护眼镜。其他信息，请参照产品供应商提供的材料安全性信息页(MSDSs)。每种 QIAGEN 试剂盒和试剂盒成分，网站上均有 PDF 格式的 MSDSs 可阅读、打印，网址 www.qiagen.com/ts/msds.asp。



注意：不要向含有 AL 缓冲液或 AW1 缓冲液的废液中直接添加漂白剂或酸性溶液。

AL 和 AW1 缓冲液含有盐酸胍，与漂白剂结合时会产生高反应性化合物。如果含有这些缓冲液的液体溅出，请使用合适的实验室清洁剂和水进行清理。如果含有污染性的试剂溅出，请立刻用实验室用清洗剂或水清洁污染区域，然后用 1% 次氯酸钠(v/v)清洁。

如果缓冲液的瓶子发生破损或泄漏，丢弃瓶子时应戴上手套和护目镜，以避免造成人身伤害或伤害他人。

QIAGEN 公司尚未对感染性材料使用核酸提取或纯化试剂产生的废液进行测试。废液中残留的感染性物质发生污染是非常不可能的，但不能完全排除。因此，废液必须考虑感染问题，并根据当地安全法规进行处理并丢弃。

下列危险和安全警告适用于核酸提取或纯化试剂的成分：

AL 缓冲液



含有盐酸胍、马来酸。警告！如果吞食或吸入，可能有害。导致皮肤瘙痒。可能引发过敏性皮肤反应。导致严重眼刺激。使用防护手套/防护衣/护目镜/面部护具。如果您感觉不适，请呼叫毒物中心或者医生/内科医师。如发生皮肤瘙痒或皮疹：获取医疗建议/关注。脱掉污染的衣物并在再次使用前洗涤。将其中内容物/容器交给获批的废物处理厂处理。

AW1 缓冲液（浓缩）



含有盐酸胍。警告！吞食或吸入有害。导致皮肤瘙痒。导致严重眼刺激。使用防护手套/防护衣/护目镜/面部护具。脱掉污染的衣物并在再次使用前洗涤。将其中内容物/容器交给获批的废物处理厂处理。

QIAGEN 蛋白酶（QP）



含有枯草杆菌蛋白酶。危险！吞食有害。导致皮肤瘙痒。导致严重眼部损伤。如果吸入，可能导致过敏、哮喘症状或者呼吸困难。可能导致呼吸系统不适。避免吸入灰尘/烟尘/煤气/雾气/蒸汽/喷雾/喷剂。使用防护手套/防护衣/护目镜/面部护具。佩戴呼吸防护用品。如果入眼：用水小心地冲洗几分钟。摘下隐形眼镜（如果有且容易摘下），继续冲洗。如果已接触或担心接触：立即呼叫毒物中心或者医生/内科医师。请将人员移到空气新鲜的地方，保持舒适顺畅的呼吸。

24-小时紧急信息服务

CHEMTREC

美国和加拿大 1-800-424-9300

美国和加拿大以外 +1 703-527-3887

【符号及定义】

符号	符号定义
	包含的试剂足够进行<N>个样品的制备
	请查阅使用说明
	在此日期前使用
	体外诊断医疗器械
	目录编号
	重要注意事项
	批号
	物料编号
	成分
	体积
	温度允许范围
	制造商
	抵达后
	送达时开启；在 2-8℃ 储存 QIAamp MinElute 离心柱
	瓶中加入乙醇后，记下当前日期
	添加
	产品规格
	冻干

符号	符号定义
	重组
	乙醇
	盐酸胍
	马来酸
	枯草杆菌蛋白酶
	全球贸易项目编号
	造成的后果
	数量
	避免阳光直射 7
	警告/警示
	唯一设备标识符

【附录】

处理 RNA

核糖核酸酶（RNA 酶）是非常稳定和具有活性的酶，一般不需要辅因子即可发挥作用。由于 RNA 酶难以灭活，并且只需微量就足以破坏 RNA，因此在未预先排除 RNA 酶污染的情况下不要使用任何塑料制品或玻璃制品。应注意避免在核酸分离过程中或结束后向 RNA 样品中引入 RNA 酶。为了创造和维持一个无 RNA 酶的环境，在对 RNA 进行操作时，应在预处理、使用一次性和非一次性容器、使用溶液中，注意以下事项。

一般性操作

操作 RNA 时应始终使用适当的微生物无菌操作技术。手和灰尘颗粒可能携带的细菌和霉菌是 RNA 酶污染的最常见来源。在处理试剂和 RNA 样品时应始终佩戴乳胶或乙烯基手套，以防止来自皮肤表面或灰尘多的实验室设备的 RNA 酶污染。勤换手套，盖上试管。

非一次性塑料制品

非一次性的塑料制品应在使用前进行处理，以确保它是不含 RNA 酶的。塑料制品应该用 0.1 M 氢氧化钠，* 1mM EDTA *，和无 RNA 酶水*（请参阅“溶液”）进行彻底的漂洗。另外，抗氯仿性的塑料制品可以用氯仿*冲洗灭活 RNA 酶。

玻璃器皿

玻璃器皿应在使用前进行处理，以确保它是不含 RNA 酶的。

用于 RNA 操作的玻璃器皿在使用前应该用清洁剂进行清洁，彻底漂洗并在烤箱中 > 240°C 烘烤四个小时以上（如果方便，也可烘烤过夜）。单独灭菌不会完全灭活许多 RNA 酶。烤箱烘烤可使核糖核酸酶失活，并确保没有其他核酸（如质粒 DNA）残留在玻璃器皿表面。

或者，玻璃器皿可以用 DEPC *（焦碳酸二乙酯）处理。在 37°C 下将玻璃器皿在含 0.1% 的 DEPC 的水中浸没过夜（12 小时），然后进行高压灭菌或加热至 100°C 保持 15 分钟以除去残留的 DEPC。

*使用化学品时，应穿戴合适的实验服、佩戴一次性手套和防护眼镜。其他信息，请参照产品供应商提供的材料安全性信息页(MSDSs)。

① COREX®管应该通过 DEPC 处理达到无 RNA 酶，而不是由烘烤实现。这将降低这类管子在离心过程中的故障率。

电泳槽


电泳槽应使用洗涤剂溶液（例如，0.5%SDS）*进行清洗，然后用水漂洗，用乙醇干燥，*†然后装入 3%过氧化氢溶液。*在室温下 10 分钟后，电泳槽应用无 RNA 酶水彻底漂洗。

溶液

溶液（水和其他溶液），应该用 0.1%DEPC 处理。DEPC 会与伯胺反应，因此不能直接用于处理 Tris 缓冲液。DEPC 在 Tris 缓冲液存在的情况下高度不稳定，会分解并迅速转化为乙醇和二氧化碳。当准备 Tris 缓冲液时，先用 DEPC 处理水，然后再溶解 Tris 配制相应的缓冲液。

DEPC 是 RNA 酶的强抑制剂，但不能绝对抑制。它通常在 0.1%的浓度下使用，以灭活玻璃或塑料器皿上的 RNA 酶，或配制无 RNA 酶的溶液和水。DEPC 通过共价修饰使 RNA 酶失活。微量的 DEPC 会将 RNA 中的嘌呤残基进行乙酰基化修饰。在无细胞系统中，乙酰基化的 RNA 翻译效率非常低。但是，其形成 DNA: RNA 或 RNA: RNA 杂交体的能力不受到严重影响，除非有一大部分嘌呤残基已被修改。残留的 DEPC 必须始终由通过高压灭菌或加热到 $100^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ ，15 分钟 \pm 1 分钟从溶液或容器中去除。

添加 0.1ml DEPC 至 100ml 待处理溶液中，用力振摇使 DEPC 形成溶液，或让溶液在 $37^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ 下孵育 12 小时以上。高压灭菌 15 分钟 \pm 1 分钟以去除所有残留的 DEPC。这个方法对于测试水源是否受到 RNA 酶的污染是可行的，因为许多蒸馏水源是无 RNA 酶活性的。

 核酸提取或纯化试剂中的缓冲液未使用 DEPC 处理进行 RNA 酶的去除，因此没有任何 DEPC 污染。

*使用化学品时，应穿戴合适的实验服、佩戴一次性手套和防护眼镜。其他信息，请参照产品供应商提供的材料安全性信息页(MSDSs)。

†一些塑料电泳槽不抗乙醇。请采取适当措施维护，并检查供应商的说明。

商标：QIAGEN®、Sample to Insight®、QIAcube®、QIAamp® (QIAGEN Group)。本文档中

使用的注册名称、商标等，即便未专门标记，也不得视为不受法律保护。

核酸提取或纯化试剂有限许可协议

使用本产品表示本产品的任何购买者或使用者同意遵循如下条款：

1. 使用本产品时必须遵守本产品随附的方案和本使用说明，且本产品仅供与检测板中包含的组分配套使用。除了本产品随附的方案、本使用说明以及 www.qiagen.com 上提供的其他方案中所述的情况，QIAGEN 并未在其任何知识产权下许可将本检测板的所含组件与本检测板中未包含的任何组件协同使用或者相整合。其中一些附加方案可能是由 QIAGEN 用户为 QIAGEN 用户提供的。这些方案未经 QIAGEN 彻底测试或优化。QIAGEN 既不对其进行担保，也不保证其没有侵犯第三方的权利。
2. 除非相关许可明确说明，否则 QIAGEN 并不保证本检测板和/或其使用不会侵犯第三方的权利。
3. 本检测板及其组件为一次性用品，不可重复使用、翻新或转卖。
4. 除了明确陈述的许可外，QIAGEN 否认提供任何其他明示或暗示许可。
5. 本检测板的购买者和使用者同意不采取、也不允许其他人采取任何步骤来实施或推动实施以上禁止的任何行为。为行使本“有限许可协议”条款的规定内容或者保护本检测板和/或其组件的知识产权，QIAGEN 可能会在法庭上执行本协议的相关禁令，并追讨所有调查和诉讼费用（包括律师费）。

如需获得更新的许可条款，请访问 www.qiagen.com。©2022 QIAGEN 公司，保留所有权利。

【故障排除向导】

故障排除向导能帮助解决可能出现的任何问题。如需更多信息，请参见我们技术支持中心的常见问答网页：www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx。QIAGEN 技术服务部门的专家将非常乐意解答您有关本手册、样本和检测技术中信息和/或方案的问题。（如需进行信息交流，请登录 www.qiagen.com 以获取相关信息）。

意见和建议

一般处理

a) 样本转移过程中移液器吸头堵塞 冷冻样本解冻后未充分混合。通过轻微搅动将冷冻样本解冻，以确保充分混合。

反复冷冻解冻过程中形成的冷沉淀物会阻塞 QIAamp MinElute 薄膜。如果目视可见

冷沉淀物，应以 16,000 x g 离心 5 分钟以澄清样本。

b) QIAamp MinElute 柱堵塞 如果以 6000 x g (8000 rpm) 的速度离心后裂解物未完全通过薄膜，请以全速（高达 20,800 x g）再离心 1 分钟。

如果裂解物在离心期间仍未通过薄膜，则丢弃样本，并用新样本材料重复始于第 1 步的分离和纯化。

反复冷冻解冻过程中形成的冷沉淀物会阻塞 QIAamp MinElute 柱薄膜。如果目视可见

冷沉淀物，应以 16,000 x g 离心 5 分钟以澄清样本。

裂解过程中使用冰冷乙醇有助于降低膜堵塞的风险。此外，必须按照上述正确顺序加入用于裂解的缓冲液。请勿将 QIAGEN Protease (QP) 直接添加到裂解缓冲液 (AL)。

c) 裂解缓冲液中形成了沉淀物 通过在 56° C 下孵育裂解缓冲液 (AL) 来溶解沉淀物。

d) 可变的洗脱体积 回收的洗脱液量取决于样本的性质。 由于离心后剩余的洗脱缓冲液被离心柱薄膜保留，回收的洗脱液体积可能低于施加

意见和建议

到柱上的洗脱缓冲液的体积。

将洗脱缓冲液放到薄膜的中心。当洗脱体积较小时，将洗脱缓冲液分配至薄膜的中心尤其重要，这样可以确保核酸和洗脱缓冲液的最佳提取效率。

e) 对于自动化工作流程中的问题

参阅 QIAcube Connect MDx 用户手册。

DNA 在下游应用中表现不佳

DNA 在下游应用中表现不佳

a) 样本裂解不完全

QIAGEN Protease (QP) 如果被长时间置于高温下，则可能会失去活性。使用新样本和新鲜的 QIAGEN Protease (QP) 重复纯化操作流程。确保按照上述说明使用蛋白酶溶剂溶解 QIAGEN Protease (QP)。为避免起泡沫，请多次翻转试剂瓶来进行混合。确保 QIAGEN Protease (QP) 完全溶解。请勿将

QIAGEN Protease (QP) 直接添加到裂解缓冲液 (AL)。

为确保有效溶解，请务必将样本和裂解缓冲液 (AL) 充分混合，以产生均匀的溶液。

因为裂解缓冲液 (AL) 的粘度很高，所以请仔细移液并使用合适的移液管，确保添加正确量的裂解缓冲液 (AL)。

b) 使用的乙醇不是 96-100% 乙醇，而是低浓度的乙醇

使用新样本和 96-100% 乙醇重复纯化操作流程。请勿使用变性乙醇，其中包含甲醇或乙酰酮等其他物质。

c) 洗涤缓冲液 1 (AW1) 或洗涤缓冲液 2 (AW2) 制备不当

确保使用正确体积的 96 - 100% 乙醇稀释洗涤缓冲液 1 (AW1) 和洗涤缓冲液 2 (AW2) 浓缩物，并在开始操作程序前通过翻转瓶子数次进行混合。

意见和建议

- d) 血浆和血清样本未正确制备、储存或混合** 对纯化程序进行了优化以用于人血浆和血清样本。以作为抗凝剂的 EDTA 或柠檬酸盐处理的血样可以用于制备血浆。采集和离心后, 可将血浆和血清存放在 2 - 8° C 环境下, 最多可存放 6 小时。如要长期存放, 建议将样本等分, 然后在 -80° C 至 -20° C 环境下冷冻。不得多次融化冷冻的血浆或血清样本。反复冻融会导致蛋白变性和沉淀, 从而导致病毒滴度下降, 进而导致病毒核酸产量减少。通过轻微搅动将冷冻样本解冻, 以确保充分混合。
- e) 洗脱物中几乎没有或没有 DNA** 如果可能, 降低洗脱体积或增加加入到反应体系中的洗脱物的体积。
- f) 采用的洗脱体积不当** 确定适合您的下游应用的最大洗脱物体积。相应地减少或增加加入到下游应用的洗脱物的体积。洗脱体积可按比例调整。采用较小体积的洗脱缓冲液 (AVE) 进行洗脱可获得较高的核酸浓度。
- g) 潜在抑制剂的携带污染** 务必在洗脱前进行干式离心步骤, 以防止对下游检测的潜在抑制。使用新的洗脱管以避免残留的洗涤缓冲液造成污染, 因为这可能导致下游检测受到抑制。根据 QIAamp DSP Virus Spin Kit 的示例性干扰研究, 并依照 ISO 20186-2:2019(E), 采血管中的肝素可能会影响分离的核酸纯度, 并且可能携带污染到洗脱液中, 从而在某些下游应用中产生抑制作用。因此, 我们建议使用经

意见和建议

EDTA 或柠檬酸盐作为抗

凝剂处理的血液样本。

h) 载体 RNA 降解/制备不当

载体 RNA 的作用有两个：第一，它能增强病毒核酸附着到 QIAamp 硅胶膜的效果，

尤其是在样本中的目标分子非常少时。第二，添加大量的载体 RNA 可以降低病毒

RNA 降解的几率，出现这种罕见的情况时，核糖核酸酶分子可避开裂解缓冲液 (AL)

中高离子盐和洗涤剂对其的变性。

如果未将载体 RNA 添加到裂解缓冲液 (AL)，则可能会导致病毒 RNA 或 DNA 回收

减少。

载体 RNA 只能溶解于洗脱缓冲液 (AVE)；应立即将溶解的载体 RNA 添加到裂解缓

冲液 (AL) 中。

一些商用下游检测的内部对照品中也包含载体 RNA。在这些情况下，请参阅下游检

测制造商的相关使用说明。

【参考文献】

QIAGEN 维护着一个运用 QIAGEN 产品的，大型、最新的科学出版物在线数据库。完善的搜索选项使您能找到您所需要的文章，无论是通过一个简单的关键词搜索，或通过指定的应用、研究领域、标题等等。

如需参考文献的详细列表，请访问 QIAGEN 在线参考数据库，网址

www.qiagen.com/RefDB/search.asp，或联系 QIAGEN 技术支持或当地经销商。

【基本信息】

备案人/生产企业：QIAGEN GmbH 凯杰德国

备案人/生产企业住所：QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Germany

生产地址：QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Germany

联系方式

电话：400-880-0325

网址：www.qiagen.com

售后服务单位名称：凯杰企业管理（上海）有限公司

住所：中国（上海）自由贸易试验区达尔文路 88 号 20 号楼

联系方式

电话：800-988-0325

代理人名称：凯杰企业管理（上海）有限公司

住所：中国（上海）自由贸易试验区达尔文路 88 号 20 号楼

联系方式

电话：800-988-0325

【医疗器械备案证书编号/产品技术要求编号】国械备 20140008

【说明书批准及修改日期】2023 年 04 月 19 日

生产日期及失效日期见标签

订购：www.qiagen.com/shop | 技术支持：support.qiagen.com | 网站：www.qiagen.com