

上海生物样本库
最佳实践规范及标准操作流程
文件汇编
(第二版)

2010年5月

上海生物样本库				
质量管理体系文件				
文件名称	核酸提取和纯化控制程序		编号	SOP-SC-030-01
批准人		批准日期	实施日期	

核酸提取和纯化控制程序

1. 目的

规定 DNA 和 RNA 核酸样本提取和纯化实验应遵守的操作。

2. 适用范围

从人体体液、细胞、组织等标本大批量提取和纯化 DNA 和 RNA。，并包括对核酸样本的长期保存。

3. 定义和术语

3.1 DNA Deoxyribonucleic Acid

即脱氧核糖核酸, 是遗传信息储存及传递者。

3.1 RNA Ribonucleic Acid

由脱氧核糖核酸 (DNA) 为模板转录合成的核糖核酸的片断。

4. 职责

4.1 样本库实验技术员负责从不同样本中提取和纯化DNA和RNA。

5. 设备和器材

见正文内容

6. 正文

6.1 实验室设置

6.1.1 在实验室内，试剂贮存，核酸提取，核酸质量控制以及核酸样本保存的区域应相互隔离。严禁不同工作区内的设备物品如加样器、试剂等的移出移进造成不同的工作区间发生交叉污染。

6.1.2 进入各个工作区的所有人员和物品必须遵循严格的顺序，只能按单一方向进行，即从试剂贮存和准备区→提取区→质量分析区→标本保存区。

6.1.3 工作人员穿着的工作服应经常洗涤，尽量避免不同工作区内的工作服相互混穿，造成污染。同时，应假定样本可能含有病原微生物，样本 DNA 提取工作应参考 P2 级实验室操作规范进行。

6.2 工作区域功能和设备

6.2.1 试剂贮存和准备区

该工作区用于贮存溶液的制备、溶液的分装。本工作区仪器设备配置应包括如下：

- A. 4℃冰箱和-20℃冰箱、混匀器、微量加样器（覆盖 1~1000 μ l 各个容量的加样器）、生物安全柜（带紫外灯）；
- B. 专用办公用品、专用工作服和工作鞋；
- C. 消耗品：一次性手套、一次性吸水纸、耐高压处理的离心管和加样器吸头等。

6.2.2 提取区

该工作区用于标本贮存、核酸提取。本工作区仪器设备配置应包括如下：

- A. 4℃冰箱、-20℃冰柜、高速台式冷冻离心机、混匀器、水浴箱或加热模块、微量加样器（包括 1~1000 μ l 各个容量的加样器）、可移动紫外灯（近工作台面）；
- B. 超净工作台和超声波水浴（处理大分子 DNA），专用办公用品、专用工作服和工作鞋；
- C. 消耗品：一次性手套、一次性吸水纸、耐高压处理的离心管和加样器吸头等。

6.2.3 质量分析区

该工作区用于核酸浓度和纯度测定。本工作区仪器设备配置应包括如下：

- A. 核酸微量分析仪，如 Nanodrop 和 Qiaxcel；或紫外核酸分析仪及凝胶电泳仪；微量加加样器若干支（覆盖 1~100 μ l）；
- B. 专用办公用品、专用工作服和工作鞋；
- C. 消耗品：一次性手套、一次性吸水纸、离心管和加样器吸头等。

6.2.4 标本保存区

该工作区用于标本贮存。本区仪器设备配置应包括-80℃冰柜。

6.3 RNA 酶污染源及预防

6.3.1 实验室用的普通玻璃器皿和塑料制品经常有 RNA 酶污染，使用前必须于 180℃干烤 8 小时或更长时间（玻璃器皿）。

6.3.2 对于塑料制品等不适合高温烘烤的材料，使用 RNA 酶的抑制剂焦碳酸二乙酯（DEPC）处理。通常是以 0.1 % 的 DEPC 水溶液浸泡用于制备 RNA 的烧杯，试管和其他用品。灌满 DEPC 的玻璃或塑料器皿在 37℃放置 2 小时，在 121℃高压蒸汽灭菌 15 分钟。

6.3.3 电泳设备的处理

用于 RNA 电泳的电泳槽应用去污剂洗干净，再用水冲洗，用乙醇干燥，然后用 0.1%DEPC（见下文）处理过的水彻底冲洗电泳槽。最好能留出一些玻璃器皿、塑料制品和电泳槽作上特殊标记，存放在指定地点，为 RNA 实验专用。

6.3.4 预防研究人员造成的污染

RNA 酶最主要的潜在污染源是研究人员的手。因此，在准备分离和分析 RNA 的材料和溶液时，主要涉及 RNA 的一切操作过程中，都应戴一次性手套，接触“脏的”玻璃器皿和其他物品以后，手套就可能沾染上 RNA 酶，因此进行 RNA 实验时应勤换手套。

6.3.5 防止溶液的污染

用高压灭菌的水和 RNA 研究专用的化学试剂配制溶液，用干烤过的药匙称取试剂，将溶液装入无 RNA 酶的玻璃器皿。可能的话溶液均应用 0.1%DEPC 于 37℃至少处理 12 小时，然后于 100℃加热 15 分钟或在 151bf/in² (1.034x10⁵Pa) 的高压下蒸汽灭菌 15 分钟。

注：DEPC 可与胺类迅速发生化学反应，因此不能用来处理含有 Tris 一类的缓冲液。

6.4 核酸标本保存

质检完毕后，打印条码贴于样品冻存管外壁，置于-80℃保存，可保存 5 年以上。做好标本贮存登记。

7. 相关文件

无

8. 参考标准与文献

无

