

【产品名称】

通用名称: 核酸提取或纯化试剂 商用名称: 磁珠法通用 DNA 提取试剂盒

【包装规格】

200 人份/盒 (货号 IVD3102), 版本: BD

【预期用途】

本产品适用于从各种临床样本(血液、组织、脱落细胞、FFPE 样品、血清、血浆、血斑、口腔拭子)中提取高纯度的 DNA, 提取产物可用于临床体外检测使用。

【检验原理】

本产品基于高结合力的磁性粒子的纯化方式。样品在消化液和蛋白酶 K 作用下裂解消化, DNA 释放到消化液中, 加入磁性粒子和结合液后, DNA 会吸附在磁性粒子的表面, 而蛋白质等杂质则不被吸附而去除。吸附了 DNA 的粒子经洗涤液洗涤去除蛋白质和杂质, 经乙醇液洗涤去除盐分, 最后 DNA 被洗脱液 EB 或灭菌水洗脱。

【主要组成成份】

货号	IVD3102-50, 测试	IVD3102	主要成分
磁珠液 MP	1.2 ml	4.5 ml	磁珠液
RNase A	10 mg	40 mg	核糖核酸酶 A
蛋白酶 K	24 mg	90 mg	重组蛋白酶 K
蛋白酶溶解液	1.8 ml	6 ml	甘油/Tris/CaCl ₂
消化液 ATL	15 ml	60 ml	Tris/EDTA/SDS
变性液 BL	15 ml	60 ml	NaAc/Tween-20/盐酸胍
结合液 BD*	5 ml	20 ml	高氯酸钠
洗涤液 BW1*	44 ml	110 ml	盐酸胍
洗脱液 EB	10 ml	30 ml	10mm Tris, pH8.5

【储存条件及有效期】

本产品在室温贮存和运输, 有效期 18 个月。

【准备工作】

- 溶解蛋白酶 K: 加入 1.2ml/4.5ml 蛋白酶溶解液, 颠倒数次使之充分溶解, 保存于-20~8℃。
- 溶解 RNase A: 加入 0.7ml/2.5ml 蛋白酶溶解液, 颠倒数次使之充分溶解, 保存于-20~8℃。
- 70~75%乙醇。
- 使用前, 结合液 BD/洗涤液 BW1 按标签所示, 加入适量的无水乙醇进行稀释。

第一部分: 样品的裂解和消化

A. 液态样品 (如血液、血清、血浆、白膜层、细胞悬液等样品)

- 在 1.5ml 离心管中, 加入 20μl Proteinase K、(可选) 10μl RNase A 和 200μl 血液、黄层、血浆、血清、细胞悬液等样品至装有蛋白酶 K 的离心管中。加入 220μl 变性液 BL, 涡旋混匀 5 秒, 70℃ 振荡温育 10 分钟。

B. 干血片

- 转移~3 个 3mm 直径的血片至 2.0ml 离心管中。加入 20μl Proteinase K 和 300μl 消化液 ATL, 55℃ 振荡(900-1200rpm)温育 60 分钟。加入 150μl 变性液 BL 至样品中, 70℃ 振荡(900-1200rpm)温育 15 分钟。

C. 干拭子

- 转移拭子至 2ml 离心管中, 加入 20μl Proteinase K 和~500μl 消化液 ATL, 55℃ 振荡温育 30 分钟。

D. 湿拭子(含细胞保存液)

- 10,000 x g 离心 1 分钟收集脱落细胞, 吸弃多余保存液, 余下 300μl 保存液和拭子。加入 150μl Buffer ATL、(可选) 10μl RNase A 和 20μl Proteinase K, 55℃ 振荡(900-1200rpm)温育 30 分钟。

E. 唾液样品 (含保存液)

- 转移 450μl 唾液至 2ml 离心管中, 加入 20μl Proteinase K 和(可选) 10μl RNase A, 55~65℃ 温育 30~90 分钟。

F. 组织(<20mg 组织样品)

- 把<20mg 组织转移至 1.5ml 离心管中, 加入 20μl Proteinase K 和 200μl 消化液 ATL, 55℃ 振荡温育 30~120 分钟或直至样品完全消化。加入 10μl RNase A 混匀后放置 10 分钟。加入 200μl 变性液 BL, 70℃ 振荡温育 10 分钟。

G. 培养细胞 (不超过 5x10⁶ 个细胞), 脱落细胞

1. 取适量培养液、尿液、羊水或腹水等液体样品至离心管中, 2,000 x g 离心 10 分钟收集细胞或脱落细胞。去除培养液, 余下 100μl 培养液或体液, 涡旋重悬细胞。加入 100μl Buffer ATL、(可选) 10μl RNase A 和 20μl Proteinase K, 55℃ 振荡(900-1200rpm)温育 15~30 分钟。加入 200μl 变性液 BL, 涡旋混匀 15 秒。

H. 石蜡包埋组织切片

1. 转移石蜡包埋组织切片至 1.5ml 离心管中, 用二甲苯或代替物(如脱蜡液 DPS, Cat, No:DPS-100)去除石蜡。加入 20μl 蛋白酶和 220μl 消化液 ATL 至样品中, 混匀。55℃ 温育 60~90 分钟。90℃ 温育 60 分钟。
2. 加入 10μl RNase A 至样品中, 混匀, 室温放置 10 分钟。加入 220μl 变性液 BL, 涡旋混匀 15 秒。

第二部分：手工纯化操作

1. 在 1.5ml 离心管中，加入 20 μ l 磁珠液 MP 和 450 μ l 结合液 BD。
2. 转移 350~400 μ l 消化液(第一部分)至装有磁珠液 MP 和结合液 BD 的 1.5ml 离心管中，颠倒混匀 15~30 次。室温静置 5 分钟，其间颠倒混匀数次。
3. 转移至磁力架上吸附 1 分钟。倒弃或吸弃溶液。
4. 加入 500 μ l 洗涤液 BW1，涡旋 15 秒重悬磁珠。转移至磁力架上吸附 1 分钟。倒弃或吸弃溶液。
5. 重复第 4 步一次。
6. 加入 750 μ l 70~75%乙醇，涡旋 15 秒重悬磁珠。转移至磁力架上吸附 1 分钟。倒弃或吸弃溶液。
7. 重复第 6 步一次。
8. 短暂离心，转移至磁力架上，吸弃所有溶液。打开管盖，空气干燥 10 分钟。
9. 加入 50~100 μ l 洗脱液 EB，55 $^{\circ}$ C 振荡温育 10 分钟。转移至磁力架上吸附 2 分钟，把 DNA 转移至新的离心管中。

第二部分：32/48 通道核酸提取仪操作

1. 按下表把洗涤液/样品等加到 96 孔深孔板对应的孔中，

孔位	预装试剂	使用前加入
第1/7排孔	450 μ l 结合液BD	400~450 μ l消化液或上清液
第2/8排孔	500 μ l 洗涤液BW1	
第3/9排孔	500 μ l 洗涤液BW1	
第4/10排孔	500 μ l 70~75%乙醇， 20 μ l 磁珠液 MP	
第5/11排孔	500 μ l 70~75%乙醇	
第6/12排孔	50~100 μ l 洗脱液EB	

2. 打开机器，启动对应程序。把磁力外套插到仪器中，并把 96 孔板放到仪器中。
3. 约 30 分钟后，仪器结束。取出 96 孔板和磁力外套。
4. 把 DNA 转移至 1.5ml 离心管中，把产物保存于-20~8 $^{\circ}$ C。

第二部分：96 通道核酸提取仪操作

1. 按下表把洗涤液/样品等加到深孔板对应的孔中，

板的名称	预装试剂	使用前加入
样品板	450 μ l 结合液BD	400~450 μ l消化液或上清液
清洗板1	500 μ l洗涤液BW1，并放入96孔磁力套	
清洗板2	500 μ l洗涤液BW1	

清洗板3	800 μ l 70~75%乙醇,20 μ l 磁珠液 MP
洗脱板	50~100 μ l 洗脱液EB

2. 打开机器，启动对应程序，按提示把 96 孔板放到仪器中。
3. 约 30 分钟后，仪器结束。
4. 取出 96 孔板。把产物保存于-20 $^{\circ}$ C。

【产品的局限性】

样品提取效率与操作者是否严格按照说明书操作有关。

【备案信息】

备案人/生产企业名称：广州美基生物科技有限公司

住所：广州市黄埔区联浦街 16 号 502 房

生产地址：广州市黄埔区联浦街 16 号 502 房

售后服务单位：广州美基生物科技有限公司 电话：020-89857862

生产备案凭证编号：粤穗食药监械生产备 20160033 号 备案号：粤穗械备 20150062 号

附：MagMix 32/48 运作程序

序号	名称	孔位	容积	混合时间		等待		磁吸时间			吸磁	加热	
				时间	速度	时间	位置	升降	液面	底部		板位	温度
1	吸磁	4	500	0.5min	8	0	0	30s	0	0	自动	/	
2	结合	1	850	6 min	8	0	0	60s	15	15	自动	1	
3	清洗1	2	500	3 min	9	0	0	60s	0	0	自动	/	/
4	清洗2	3	500	2 min	9	0	0	60s	0	0	自动	/	/
5	清洗3	4	500	1 min	9	0	0	30s	0	0	自动	/	/
6	清洗4	5	500	1 min	9	0	0	30s	0	0	自动	/	/
7	干燥	5	500	0	0	3	晾干	0	0	0	自动	/	/
8	洗脱	6	100	8 min	10	0	0	60s	0	40	自动	6	55
9	弃磁	4	500	0.5min	9	0	0	0	0	0	自动	/	/