

**【产品名称】**

通用名称：核酸提取或纯化试剂

商用名称：柱法 FFPE RNA/DNA 共提试剂盒

**【包装规格】**

10 人份 (货号 R5116-01B), 50 人份 (货号 R5116-02B), 250 人份 (货号 R5116-03B)

**【预期用途】**

本产品适用于从 FFPE 样本中同时提取 RNA 和 DNA，提取产物可用于临床体外检测使用。

**【检验原理】**

本产品基于硅胶柱纯化方式。样品在消化液和蛋白酶 K 作用下分步裂解消化得到 DNA 和 RNA 消化液，DNA 或 RNA 经调节后，会吸附在柱子的滤膜，而蛋白质等杂质则不被吸附而去除。吸附了核酸的滤膜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/RNA 被洗脱。

**【主要组成成份】**

| 货号        | R5116-01B | R5116-02B | R5116-03B | 主要成分                       |
|-----------|-----------|-----------|-----------|----------------------------|
| RNA 吸附柱 I | 10        | 50        | 250       | 纯化柱                        |
| 脱蜡液 DPS   | 10 ml     | 50 ml     | 250 ml    | 烷烃混和物                      |
| 消化液 FRL   | 5 ml      | 15 ml     | 60 ml     | Tris/EDTA/SDS              |
| 变性液 RL    | 5 ml      | 15 ml     | 60 ml     | 异硫氰酸胍                      |
| 洗涤液 RW2*  | 5 ml      | 20 ml     | 2 x 50ml  | Tris/NaCl                  |
| 洗脱液 RFW   | 1.8 ml    | 10 ml     | 30 ml     | DEPC 处理水                   |
| 蛋白酶 K     | 12 mg     | 50 mg     | 220 mg    | 重组蛋白酶 K                    |
| 蛋白酶溶解液    | 1.8 ml    | 5 ml      | 15 ml     | Tris/CaCl <sub>2</sub> /甘油 |
| DNA 吸附柱 I | 10        | 50        | 250       | 纯化柱                        |
| 消化液 ATL   | 5 ml      | 15 ml     | 60 ml     | Tris/EDTA/SDS              |
| 变性液 AL    | 5 ml      | 15 ml     | 60 ml     | 盐酸胍/NaAc/Tween-20          |
| 洗涤液 GW1*  | 6.6 ml    | 13 ml     | 66 ml     | 异硫氰酸胍                      |
| 洗涤液 GW2*  | 6 ml      | 20 ml     | 2 x 50ml  | Tris/NaCl                  |
| 洗脱液 EB    | 1.8 ml    | 10 ml     | 30 ml     | 10mM Tris,pH8.5            |
| 收集管       | 20        | 100       | 5 x 100   | 塑料管                        |

**【储存条件及有效期】**

本产品室温下运输，收到产品后，把蛋白酶 K 保存于-20~8℃。其它组份保存于室温，有效期 18 个月。

**【准备工作】**

- 溶解蛋白酶 K: 加入 0.6ml/2.5ml/11ml 蛋白酶溶解液至瓶子中，溶解后保存于-20~8℃。
- 使用前，洗涤液 GW1/洗涤液 GW2/洗涤液 RW2 按标签所示，加入适量的无水乙醇进行稀释。

**第一部分：样品裂解和消化**
**A. 组织切片(简易方案)**

- 用手术刀去除多余石蜡，切取数个(<5 片)切片并转移至 1.5~2.0ml 离心管中。
- 加入 700µl 脱蜡液 DPS，颠倒数次让切片完全浸泡于脱蜡液 DPS 中，56℃ 水浴 5 分钟，立即涡旋混匀 15~20 秒让石蜡充分溶解。
- 加入 200µl 消化液 FRL 至样品中，涡旋混匀 5 秒，13,000 x g 离心 1 分钟。
- 加入 20µl 蛋白酶 K 至下层溶液，吸打~3 次，56℃ 温育 15 分钟。
- 转移下层消化液到新的离心管中，冰上放置 3 分钟。
- >14,000 x g 离心 3 分钟，转移上清液至新的 1.5ml 离心管，上清液于 80℃ 水浴 15 分钟，按第二步的 RNA 流程进行操作。
- 保留沉淀部分，加入 200µl 消化液 ATL 和 20µl 蛋白酶 K，涡旋混匀。56℃ 温育 60 分钟，90℃ 水浴 60 分钟，按第二步的 DNA 流程进行操作。

**B. 组织切片(标准方案)**

- 用手术刀去除多余石蜡，切取数个(<8 片)切片并转移至 1.5~2.0ml 离心管中。
- 加入 700µl 脱蜡液 DPS，颠倒混匀让切片完全浸泡于脱蜡液 DPS 中，56℃ 水浴 5 分钟，立即涡旋混匀 15~20 秒让石蜡充分溶解。
- 13,000 x g 离心 3 分钟，小心吸弃脱蜡液，残留少量的液体不影响提取。若这一步石蜡去除不充分，重复第 2-3 步。
- 加入 200µl 消化液 FRL 和 20µl 蛋白酶 K，涡旋 10~15 秒，56℃ 温育 15 分钟。
- 冰上放置 3 分钟。>14,000 x g 离心 3 分钟。
- 转移上清至新的 1.5ml 离心管，上清液于 80℃ 水浴 15 分钟，按第二步的 RNA 流程进行操作。

- 保留沉淀部分，加入 200 $\mu$ l 消化液 ATL 和 20 $\mu$ l 蛋白酶 K，涡旋混匀。56 $^{\circ}$ C 温育 60 分钟，90 $^{\circ}$ C 水浴 60 分钟，按第二步的 DNA 流程进行操作。

## 第二部分：过柱纯化

### RNA 抽提

- 取第 6 步获得的上清液，加入 200 $\mu$ l 变性液 RL 和 600 $\mu$ l 无水乙醇，涡旋混匀 10 秒。
- 把 RNA 吸附柱装在 2ml 收集管中。转移一半体积的混合液至柱子中。10,000  $\times$  g 离心 30-60 秒。
- 倒弃滤液，把柱子装在收集管中。转移剩余混合液至柱子中。10,000  $\times$  g 离心 30-60 秒。
- 倒弃滤液，把柱子装在收集管中。加入 500 $\mu$ l 洗涤液 RW2 至柱子，10,000  $\times$  g 离心 30-60 秒。
- 倒弃滤液，把柱子装在收集管中。加入 500 $\mu$ l 洗涤液 RW2 至柱子，10000  $\times$  g 离心 30-60 秒。
- 倒弃流出液，把柱子装在收集管中。13,000  $\times$  g 离心空柱 3 分钟，以甩干柱子的基质。
- 将柱子转移至新的 1.5ml 离心管。加入 15-50 $\mu$ l 洗脱液 RFW 至柱子的膜中央。静置 1 分钟。13,000  $\times$  g 离心 1 分钟。
- 弃去柱子，把 RNA 保存于-80 $^{\circ}$ C。

### DNA 抽提

- 取第 7 步获得的消化液，加入 200 $\mu$ l 变性液 AL 至样品中，涡旋混匀 10 秒。
- 加入 200 $\mu$ l 无水乙醇至样品中。涡旋混匀 10 秒。
- 把 DNA 吸附柱装在 2ml 收集管中。转移混合液至柱子中，10,000  $\times$  g 离心 60 秒。
- 倒弃滤液，把柱子装回收集管中，加入 500 $\mu$ l 洗涤液 GW1，10,000  $\times$  g 离心 30-60 秒。
- 倒弃滤液，把柱子装回收集管中，加入 500 $\mu$ l 洗涤液 GW2，10,000  $\times$  g 离心 30-60 秒。
- 倒弃滤液，把柱子装回收集管中，加入 500 $\mu$ l 洗涤液 GW2，10,000  $\times$  g 离心 30-60 秒。
- 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。13,000  $\times$  g 离心 3 分钟，以甩干柱子的基质。
- 将柱子转移至新的 1.5ml 离心管，加入 15-30 $\mu$ l 预热至 56 $^{\circ}$ C 洗脱液 EB 至柱子的膜中央。放置 3 分钟，13,000  $\times$  g 离心 1 分钟。
- 丢弃 DNA 结合柱，把 DNA 保存于 2-8 $^{\circ}$ C，长期保存需保存于-20 $^{\circ}$ C 或-80 $^{\circ}$ 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。

### 【产品性能指标】

- 外观检查：试剂盒应组份完全，包装外观清洁、无泄漏、无破损；标志、标签字迹清楚。
- 核酸纯度：按说明书提取 2.5mg 经福尔马林固定的肝脏，检测产物时，OD260/280 值在 1.7-2.0，A260/230 在 1.2-1.8，且 CV 值小于 10%。
- 核酸产量：按说明书提取 2.5mg 经福尔马林固定的肝脏，检测 DNA 产物时，核酸产量在 2~5 $\mu$ g，检测 RNA 产物时，核酸产量在 2~5 $\mu$ g，且 CV 值小于 15%。

### 【注意事项】

- 本品仅用于体外诊断。
- 实验前请仔细阅读本说明书。
- 为了避免样本中任何潜在的生物危险，检测样品应视为具有传染性物质，避免接触到皮肤和粘膜。标本操作和处理均需符合相关法规要求：卫生部《微生物医学实验室生物安全通用准则》和《医疗废物管理条例》。
- 所用过的吸头请打入盛有消毒剂的容器，并与废弃物一起灭菌后方可丢弃。

### 【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

传真：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