

【产品名称】

通用名称: 核酸提取或纯化试剂

商用名称: 磁珠法游离 DNA 提取试剂盒

【包装规格】

200 人份 (货号 IVD5432)

【预期用途】

本产品适用于从各种 200-600 μ l 血清、血浆、体液、积液等样品中提取游离 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 作用下分步裂解消化得到 DNA 和 RNA 消化液, 加入磁性粒子和结合液, DNA 或 RNA 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。吸附了核酸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 RNA 被洗脱液 EB 洗脱。

【主要组成成份】

货号	IVD5432-50,测试	IVD5432	主要成分
磁珠液 MPG	1.5 ml	11 ml	磁珠液
Carrier RNA	310 μ g	310 μ g	Poly A
蛋白酶 K	30 mg	180 mg	重组蛋白酶
蛋白酶溶解液	1.8 ml	10 ml	Tris/CaCl ₂ /甘油
结合液 MLK	60 ml	250 ml	异硫氰酸胍/表面活性剂
洗涤液 MAW1	60 ml	250 ml	异硫氰酸胍
洗涤液 MW2	20 ml	2 x 50 ml	Tris/NaCl
洗脱液 EB	20 ml	60 ml	10mm Tris,pH8.5

【储存条件及有效期】

本试剂盒室温运输和保存, 有效期 18 个月。

【准备工作】

- 溶解蛋白酶 K: 加入 1.5ml/9ml 蛋白酶溶解液至瓶子中, 颠倒数次后保存于-20~8 $^{\circ}$ C。
- 使用前, 洗涤液 MW2 按标签所示, 加入适量的无水乙醇进行稀释。
- 溶解 Carrier RNA: 加入 1ml 洗脱液 EB 和 10 μ l 蛋白酶 K 至瓶子中, 振荡 3 分钟后保存于-20 $^{\circ}$ C。
- 处理小于 300 μ l 样品, 清洗时, 洗涤液 MAW1/MW2 可以调整为 500 μ l,

A: 手工纯化操作

1. 样品体积, 与蛋白酶 K/磁珠 MPG/结合液 MLK 用量的关系。

样品体积	200 μ l	300 μ l	400 μ l	500 μ l	600 μ l
蛋白酶 K	15 μ l	20 μ l	30 μ l	35 μ l	40 μ l
磁珠液 MPG	20 μ l	30 μ l	40 μ l	45 μ l	50 μ l
结合液 MLK	350 μ l	500 μ l	700 μ l	900 μ l	1000 μ l
Carrier RNA	0.1~1 μ g (Carrier RNA 会影响 Qubti 读数, 但实验证明添加量在 0.1-0.2 μ g Carrier RNA 时, 有利于稳定游离 DNA 的产量, 且基本不影响 qubit 读数)				

2. 先转移适量的蛋白酶 K 和磁珠 MPG 至 1.5-2.0ml 的离心管。然后转移 200~600 μ l 血清或血浆样品至含蛋白酶 K/磁珠的离心管中。
3. **加入适量体积的结合液 MLK 至样品中**, 涡旋混匀 10 秒, 室温颠倒混匀 10 分钟。转移至磁力架上, 静置 2~3 分钟吸附磁珠, 吸弃所有溶液。
4. **加入 650~850 μ l 洗涤液 MAW1, 涡旋 10 秒**。转移至磁力架上吸附 1 分钟, 吸弃溶液。
5. **加入 650~850 μ l 洗涤液 MW2, 涡旋 10 秒**。转移至磁力架上吸附 1 分钟, 吸弃溶液。
6. **加入 650~850 μ l 洗涤液 MW2, 涡旋 10 秒**。转移至磁力架上吸附 1 分钟, 吸弃溶液。
7. 短暂离心吸弃残液, 室温干燥 10~15 分钟。
8. **加入 30~50 μ l 洗脱液 EB 至样品中, 涡旋打散磁珠。室温静置 3 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(200~350 μ l)

1. 按下表把洗涤液/样品等加到深孔板对应的孔中,

孔位	样品量	可预先分装试剂	使用前加入
第1/7排孔	200 μ l	350 μ l 结合液 MLK	200 μ l 样品 / 15 μ l PK / 0.1~1 μ g Carrier RNA
	300 μ l	500 μ l 结合液 MLK	300 μ l 样品 / 20 μ l PK / 0.1~1 μ g Carrier RNA
	350 μ l	600 μ l 结合液 MLK	350 μ l 样品 / 20 μ l PK / 0.1~1 μ g Carrier RNA
第2/8排孔	空		
第3/9排孔	700 μ l 洗涤液 MAW1 以及 0.1 倍样品体积的磁珠液 MPG		
第4/10排孔	700 μ l 洗涤液 MW2		
第5/11排孔	700 μ l 洗涤液 MW2		
第6/12排孔	50 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 35 分钟后结束。取出 96 孔板和磁力外套。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：32/48 通道核酸提取仪操作(400~700µl)

1. 该方案采用复孔结合方案，把样品分成两份，分别添加于第 1/7 排孔，以及第 2/8 排孔中。
2. 按下表把洗涤液/结合液等加到深孔板对应的孔中，

孔位	样品量	可预先分装试剂	使用前加入
第 1/7 排孔	400µl	350µl 结合液 MLK	200µl 样品 / 15µl PK / 0.1~1µg Carrier RNA
	600µl	500µl 结合液 MLK	300µl 样品 / 20µl PK / 0.1~1µg Carrier RNA
	700µl	600µl 结合液 MLK	350µl 样品 / 20µl PK / 0.1~1µg Carrier RNA
第 2/8 排孔	400µl	350µl 结合液 MLK	200µl 样品 / 15µl PK / 0.1~1µg Carrier RNA
	600µl	500µl 结合液 MLK	300µl 样品 / 20µl PK / 0.1~1µg Carrier RNA
	700µl	600µl 结合液 MLK	350µl 样品 / 20µl PK / 0.1~1µg Carrier RNA
第 3/9 排孔	700µl 洗涤液 MAW1 以及 0.07 倍样品体积的磁珠液 MPG		
第 4/10 排孔	700µl 洗涤液 MW2		
第 5/11 排孔	700µl 洗涤液 MW2		
第 6/12 排孔	50µl 洗脱液 EB		

3. 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。
4. 约 45 分钟结束。取出 96 孔板和磁力外套。转移 DNA 至离心管中，把产物保存于-20~8℃。

第二部分：96 通道核酸提取仪操作(200~350µl)

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	样品量	可预先分装试剂	使用前加入
样品板	200µl	350µl 结合液 MLK	200µl 样品 / 15µl PK / 0.1~1µg Carrier RNA
	300µl	500µl 结合液 MLK	300µl 样品 / 20µl PK / 0.1~1µg Carrier RNA
	350µl	600µl 结合液 MLK	350µl 样品 / 25µl PK / 0.1~1µg Carrier RNA
清洗板 1	700µl 洗涤液 MAW1, 0.1 倍样品体积的磁珠液 MPG、并放入 96 孔磁力套		
清洗板 2	700µl 洗涤液 MW2		
清洗板 3	700µl 洗涤液 MW2		
洗脱板	50µl 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 35 分钟仪器暂停，取出 96 孔板。把产物保存于-20℃。

第二部分：96 通道核酸提取仪操作(400~700µl)

1. 该方案采用复板结合方案，把样品分成两份，分别添加于样品板 A 和样品板 B。
2. 按下表把洗涤液/样品等加到深孔板对应的孔中

板的名称	样品量	可预先分装试剂	使用前加入
样品板 A	400µl	350µl 结合液 MLK	200µl 样品 / 15µl PK / 0.1~1µg Carrier RNA
	600µl	500µl 结合液 MLK	300µl 样品 / 20µl PK / 0.1~1µg Carrier RNA
	700µl	600µl 结合液 MLK	350µl 样品 / 20µl PK / 0.1~1µg Carrier RNA
样品板 B	400µl	350µl 结合液 MLK	200µl 样品 / 15µl PK / 0.1~1µg Carrier RNA
	600µl	500µl 结合液 MLK	300µl 样品 / 20µl PK / 0.1~1µg Carrier RNA
	700µl	600µl 结合液 MLK	350µl 样品 / 20µl PK / 0.1~1µg Carrier RNA
清洗板 1	700µl 洗涤液 MAW1, 以及 0.07 倍样品体积的磁珠液 MPG, 并放入 96 孔磁力套		
清洗板 2	700µl 洗涤液 MW2		
清洗板 3	700µl 洗涤液 MW2		
洗脱板	50µl 洗脱液 EB		

3. 打开机器，启动对应程序，按提示把 96 孔板放到仪器中。
4. 约 35 分钟仪器暂停，取出 96 孔板。把产物保存于-20℃。

【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】

1. 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。
2. 核酸回收率：按说明书处理 100ng DNA 样品时，DNA 回收率超过 80%，且 CV 值小于 10%。
3. 短片段回收率：按说明书处理 100bp DNA Marker 时，100bp DNA 片段要超过 80%。

【注意事项】

1. 本品仅用于体外诊断。
2. 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》。
3. 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 20180212 号 备案号：粤穗械备 20150062 号