

【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 大量提取试剂盒

【包装规格】

50 人份 (货号 IVD5435), 版本: 磁珠 MPF

【预期用途】

本产品适用于从各种 1~6ml 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纯化方式。样品在消化液和蛋白酶 K 作用下得到 DNA 消化液, 加入磁性粒子和结合液, DNA 会吸附在磁性粒子表面, 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 DNA 被洗脱液 EB 洗脱。

【主要组成成份】

货号	IVD5435-10,测试	IVD5435	主要成分
磁珠液 MPF	3 ml	16 ml	磁珠液
Carrier RNA	110 ug	110 ug	Poly A
蛋白酶 K	70 mg	220 mg	重组蛋白酶
蛋白酶溶解液	5 ml	30 ml	Tris/CaCl ₂ /甘油
Buffer SDS(20%)	3 ml	20 ml	SDS
结合液 MLK	120 ml	550 ml	异硫氰酸胍/表面活性剂
洗涤液 MAW1	30 ml	250 ml	异硫氰酸胍
洗涤液 MW2	20 ml	100 ml	Tris/NaCl
洗脱液 EB	5 ml	15 ml	10mm Tris,pH8.5

【储存条件及有效期】

本产品室温运输和保存, 有效期 18 个月。

【准备工作】

- 溶解蛋白酶 K: 加入 3.5ml/11ml 蛋白酶溶解液至瓶子中, 颠倒数次后保存于-20~8℃。
- 溶解 Carrier RNA: 加入 1ml 洗脱液 EB 和 10μl 蛋白酶 K 至瓶子中, 振荡 3 分钟后保存于-20
- 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。若下游应用对盐离子敏感, 用 80%乙醇代替洗涤液 MW2。

A: 手工纯化操作(不超过 4ml)

1. 样品体积, 与蛋白酶 K/磁珠 MPF/结合液 MLK 用量的关系。

样品体积	1 ml	2 ml	3 ml	4 ml
蛋白酶 K	50 μl	100μl	150μl	200μl
磁珠液 MPF	75 μl	150μl	200μl	300 μl
Buffer SDS	50 μl	100 μl	150 μl	200 μl
结合液 MLK	1.9 ml	3.8 ml	5.6 ml	7.5 ml
洗脱体积	35-50 μl	50~60 μl	70~100 μl	
Carrier RNA(可选)	0.2~1ug (Carrier RNA 会影响 Qubti 读数, 但实验证明添加量在 0.2~0.5ug Carrier RNA 时, 有利于稳定游离 DNA 的产量, 且基本不影响 qubit 读数, 为更真实的浓度, Carrier RNA 可以不加)			

2. 先转移蛋白酶 K 和 Carrier RNA 至 5~15ml 的离心管。然后转移 1~4ml 样品至离心管中。
3. 加入 Buffer SDS 至样品中, 颠倒混匀数次。55℃温育~30 分钟, 其间颠倒数次。室温放置~5 分钟让消化液恢复至室温。
4. 加入结合液 MLK 和磁珠 MPF 至样品中, 室温颠倒混匀 10 分钟。转移至磁力架上, 静置~5 分钟吸附磁珠, 吸弃溶液, 短暂离心后, 吸尽残液。
5. 加入 1.0 ml 洗涤液 MAW1, 涡旋 5 秒, 颠倒 10~15 次。转移至磁力架吸附~1 分钟, 吸弃溶液。
6. 重复第 5 步一次。
7. 加入 1.0 ml 洗涤液 MW2, 涡旋 5 秒, 颠倒 10~15 次。转移至磁力架吸附 1 分钟, 吸弃溶液。
8. 重复第 7 步一次。
9. 短暂离心后, 吸尽残液。37℃金属浴干燥 10~15 分钟让磁珠完全干燥。
10. 加入 40~100μl 洗脱液 EB 至样品中, 37℃振荡温育 5 分钟让 DNA 充分溶解。转移至磁力架上吸附 1 分钟, 把 DNA 转移至新的离心管中。
11. 短暂离心收集残液, 再把余下的 DNA 转移至第 11 步的离心管中。

B: 手工纯化操作(4~8ml, 双结合)

1. 样品体积, 与蛋白酶 K/磁珠 MPF/结合液 MLK 用量的关系。

样品体积	4 ml	5 ml	6 ml	7 ml	8 ml
蛋白酶 K	200 μl	250 μl	300 μl	300μl	300μl
磁珠液 MPF	200 μl	200 μl	200 μl		300 μl
Buffer SDS	200 μl	250 μl	300 μl	350 μl	400 μl
结合液 MLK	7.5 ml	9 ml	10.5 ml	13 ml	15 ml
洗脱体积	70~100 μl				
Carrier RNA	0.2~1ug (Carrier RNA 会影响 Qubti 读数, 但实验证明添加量在 0.5ug Carrier				

RNA 时, 有利于稳定游离 DNA 的产量, 且基本不影响 qubit 读数)
--

- 先转移蛋白酶 K 和 Carrier RNA 至 15~50ml 的离心管。然后转移 4~8ml 样品至离心管中,
- 加入 Buffer SDS 至样品中, 颠倒混匀数次。55℃温育 30~60 分钟, 其间颠倒混匀数次。室温放置 5~10 分钟让消化液恢复至室温。
- 加入结合液 MLK 至样品中**, 颠倒混匀 5~10 次。
- 转移一半消化液至 15ml 离心管中, 加入 150~300µl 磁珠液 MPF, 室温颠倒混匀~5 分钟。转移样品至磁力架, 静置~5 分钟吸附磁珠, 吸弃溶液。(这一步可用离心代替: 3000xg 离心 5 分钟)
- 把余下的消化液转移至含磁珠的离心管中, 涡旋 10 秒重悬磁珠。室温颠倒混匀~5 分钟。转移至磁力架上, 静置~5 分钟吸附磁珠, 吸弃溶液。短暂离心后, 吸尽残液。
- 加入 1.2 ml 洗涤液 MAW1, 涡旋 5 秒, 颠倒 10 次。**转移至磁力架吸附 1~2 分钟, 吸弃溶液。
- 加入 1.2 ml 洗涤液 MAW1, 涡旋 5 秒, 颠倒 10 次。**转移至磁力架吸附 1~2 分钟, 吸弃溶液。短暂离心后, 吸尽残液。
- 加入 1.2 ml 洗涤液 MW2, 涡旋 5 秒, 颠倒 10 次。**转移至磁力架吸附 1 分钟, 吸弃溶液。
- 加入 1.2 ml 洗涤液 MW2, 涡旋 5 秒, 颠倒 10 次。转移全部样品至 1.5ml 离心管中**, 转移至磁力架吸附 1 分钟, 吸弃溶液。
- 短暂离心后, 吸尽残液。37℃金属浴干燥 10~15 分钟让磁珠完全干燥。
- 加入 50~80µl 洗脱液 EB 至样品中, 37℃振荡温育~10 分钟让 DNA 充分溶解。**转移至磁力架上吸附 1 分钟, 把 DNA 转移至新的离心管中。
- 短暂离心收集残液, 再把余下的 DNA 转移至第 12 步的离心管中。

C: 96 通道核酸提取仪操作(1~6ml)

- 样品体积与蛋白酶 K/磁珠 MPF/结合液 MLK 用量的关系。

样品体积	1 ml	2 ml	3 ml	4 ml	5 ml	6 ml
蛋白酶 K	50 µl	100µl	150µl	200µl	250µl	300 µl
磁珠液 MPF	75µl	100µl	150µl	150µl	200µl	
Buffer SDS	50 µl	100 µl	150 µl	200 µl	250 µl	300 µl
结合液 MLK	1.9 ml	3.5 ml	5.2ml	7.0 ml	8.5 ml	9 ml
洗脱体积	50~70 µl	60~70µl	75~90µl			
Carrier RNA	0.5~1µg (Carrier RNA 会影响 Qubit 读数, 但实验证明添加量在~0.5µg Carrier RNA 时, 有利于稳定游离 DNA 的产量, 且基本不影响 qubit 读数)					

- 转移蛋白酶 K 和 Carrier RNA 至 15~50ml 的离心管。然后转移 1~6ml 样品至离心管中。
- 加入 Buffer SDS 至样品中, 颠倒混匀数次。55℃温育~30 分钟, 其间颠倒混匀数次。室温放置 5~10 分钟让消化液恢复至室温。
- 加入结合液 MLK 至样品中**, 颠倒混匀 5~10 次。
- 按下表把消化液加到 24 孔板中。

样品量	需要准备的样品板		
	样品板A	样品板B	样品板C
1 ml	全部消化液(~3.0ml)	无	无
2 ml	0.5倍消化液(2.8ml)	0.5倍消化液(2.8ml)	无
3 ml	0.5倍消化液(4.3ml)	0.5倍消化液(4.3ml)	
4 ml	1/3消化液(3.8ml)	1/3消化液(3.8ml)	1/3消化液(3.8ml)
5 ml	1/3消化液(4.6ml)	1/3消化液(4.6ml)	1/3消化液(4.6ml)
6 ml	1/3消化液(5ml)	1/3消化液(5ml)	1/3消化液(5ml)

- 按下表把清洗液和磁珠加入 24 孔板中。

清洗板1	3000µl 洗涤液 MAW1、70~200µl 磁珠液 MPF、24 孔磁力套
清洗板2	3000µl 洗涤液 MW2
清洗板3	3000µl 洗涤液 MW2
清洗板4	500µl 无水乙醇
洗脱板	75~90µl 洗脱液 EB

- 打开机器, 启动对应程序, 按提示把 96 孔板放到仪器中。
- 约 40~60 分钟结束, 取出 24 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】

- 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%。
- 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】

- 本品仅用于体外诊断。
- 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