

【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 (货号 IVD3102), 版本: MLA

【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	1.6 ml	7 ml	磁珠液
蛋白酶 K	24 mg	90 mg	重组蛋白酶 K
RNase A	15 mg	40 mg	核糖核酸酶 A
蛋白酶溶解液	5 ml	10 ml	甘油/Tris/CaCl ₂
消化液 ATL	20 ml	80 ml	Tris/EDTA/SDS
结合液 MLA	40 ml	140 ml	高氯酸钠
洗涤液 MWX1	70 ml	250 ml	盐酸胍
洗涤液 DW1	70 ml	250 ml	盐酸胍
洗涤液 EW	80 ml	250 ml	异丙醇
洗脱液 EB	10 ml	30 ml	10mm Tris,pH8.5

【储存条件及有效期】

本产品室温贮存和运输, 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°C。
- 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°C。

第一部分: 样品的裂解和消化

- A. 处理全血、白膜层、唾液 (含保存液)、拭子 (含保存液)、细胞悬液、体液等样品, 按下表, 在 1.5ml 离心管中, 加入适量的样品和 Proteinase K, 然后按第 2 部分或第 3 部分进行操作。

样品类型	1.5ml 离心管或第 1/7 排孔加入量
全血, 血水,	200μl 样品和 20μl Proteinase K
细胞悬液, 组织匀浆液	200μl 样品和 20μl Proteinase K
血液黄层或骨髓	100~150μl 样品和 20μl Proteinase K
唾液 (含保存液)	300μl 样品和 20μl Proteinase K
湿拭子 (含保存液)	350μl 样品和 20μl Proteinase K
血清/血浆等无细胞样品	250μl 样品和 20μl Proteinase K
HPV 拭子浸泡液	300~350μl 样品和 20μl Proteinase K

- B. 干血片 (FTA Card 或其它干血片) 或干拭子

- 转移~3 个 3mm 直径的血片或干拭子至 2.0ml 离心管中。加入 20μl Proteinase K 和 ~350μl 消化液 ATL, 55°C 振荡 (900-1200rpm) 温育 60 分钟 (干拭子温育 15-30 分钟), 按第二部分进行操作。

- C. 组织样品 (<20mg 组织样品)

- 转移 <20mg 组织转移至 1.5ml 离心管中。加入 20μl Proteinase K 和 300μl 消化液 ATL, 55°C 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。按第二部分进行操作。

- D. 培养细胞 (不超过 5x10⁶ 个细胞), 脱落细胞

- 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 150μl 液体和沉淀, 涡旋重悬细胞。加入 100μl 消化液 ATL、10μl RNase A 和 20μl Proteinase K, 55°C 振荡 (900-1200rpm) 温育 15~30 分钟, 按第二步操作。

- E. 组织切片 (简易方案)

- 转移 1~5 片石蜡切片至 1.5ml 离心管中, 13,000 x g 离心 1 分钟让组织块沉淀到管底。加入 20μl Proteinase K 和 300μl 消化液 ATL, 65°C, 300~500rpm 振荡温育 1 小时或过夜, 加入 10μl RNase A 混匀后放置 10 分钟, 90°C 温育 60 分钟。于 13,000 x g 离心 3 分钟, 用移液枪小心吸取 250~300μl 消化液, 按第二部分进行操作。

- F. 菌液样品

- 离心收集细菌，用 150ul Buffer TE/Lysozyme(3mg/ml) 重悬细菌，室温静置 15 分钟。加入 150ul 消化液 ATL、10ul RNase A 和 20ul Proteinase K，65°C 振荡温育 30 分钟。按第二部分进行操作。

第二部分：手工纯化操作

1. 加入 30ul 磁珠液 MP 和 600ul 结合液 MLA 至样品中，颠倒混匀 15~30 次。室温振荡混匀 10 分钟。【全血建议 55 度振荡温育混匀 10 分钟。】转移至磁力架上吸附 1 分钟。倒弃或吸弃溶液。
2. 加入 600ul 洗涤液 MWX1，涡旋 30~60 秒重悬磁珠。转移至磁力架上吸附 1 分钟。倒弃或吸弃溶液。
3. 加入 600ul 洗涤液 DW1，涡旋 30~60 秒重悬磁珠。转移至磁力架上吸附 1 分钟。倒弃或吸弃溶液。
4. 加入 600ul 洗涤液 EW，涡旋 15~30 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. 加入 600ul 洗涤液 EW，涡旋 15~30 秒重悬磁珠。转移至磁力架上吸附 1 分钟。倒弃或吸弃溶液。
6. 短暂离心，小心吸弃所有溶液，空气干燥 10 分钟。
7. 加入 50~100ul 洗脱液 EB，55°C 振荡(1000-1500rpm)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。

第三部分：32/48 通道核酸提取仪操作

1. 按下表把洗涤液/结合液等加到 96 孔深孔板对应的孔中。

孔位	预装试剂	使用前
第1/7排孔	600ul 结合液MLA	转移250-350ul消化液或样品（第一部分）
第2/8排孔	600ul 洗涤液MWX1	
第3/9排孔	600ul 洗涤液DW1	
第4/10排孔	600ul Buffer EW 30ul 磁珠液 MP	
第5/11排孔	600ul Buffer EW	
第6/12排孔	120ul 洗脱液EB	

2. 在 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 40 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°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。

【注意事项】

1. 本品仅用于体外诊断。
2. 实验前请仔细阅读本说明书。
3. 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《微生物生物医学实验室生物安全通用准则》和《医疗废物管理条例》。
4. 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
- 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

【附天隆核酸提取程序】

编号	孔位	名称	等待	混合	磁吸	混合	体积	温度
1	4	吸磁	0	20 秒	30 秒	快	600	关闭
2	1	消化	0	360 秒	90 秒	快	800	90
3	1	结合	0	400 秒	90 秒	快	800	关闭
4	2	清洗 1	0	120 秒	60 秒	快	600	关闭
5	3	清洗 2	0	180 秒	60 秒	快	600	关闭
6	4	清洗 3	0	60 秒	60 秒	快	600	关闭
7	5	清洗 4	0	6 秒	90 秒	快	600	关闭
8	6	洗脱	200 秒	720 秒	120 秒	快	100	55
9	5	弃磁	0	20 秒	0 秒	快	500	关闭

处理组织、血片、切片、菌液时，因样品已经用 Proteinase K 进行消化，结合步骤混合时间可以调整为 300 秒，并可以省略第 8-11 步以加速提取。