

【产品名称】

通用名称: 核酸提取或纯化试剂

商用名称: 磁珠法粪便 DNA 提取试剂盒

【包装规格】

200 份/盒 (货号 IVD3105), 200 份/盒(IVD3105B)

【预期用途】

本产品适用于从粪便样品中提取高纯度的 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 的粒子洗涤去除蛋白质和杂质, 最后 DNA 被洗脱液 AE 或灭菌水洗脱。

【主要组成成份】

货号	IVD3105	IVD3105B	主要成分
磁珠液 MP	7.0 ml	7.0 ml	磁珠液
蛋白酶 K	90 mg	90 mg	重组蛋白酶 K
蛋白酶溶解液	10 ml	10 ml	甘油/Tris/CaCl ₂
RNase A	40 mg	-	牛胰核糖核酸酶
2ml 匀浆管	200 个	无	三种不同的研磨珠
消化液 ATL	250 ml	250 ml	Tris/EDTA/SDS
抗氧化剂 PVP-10	4.4 g	无	NaAC/Tween-20/盐酸胍
去蛋白液 PCI	130 ml	无	酚氯仿
去蛋白液 PS	30 ml	30 ml	醋酸钾
结合液 MLE	90 ml	-	异硫氰酸胍
结合液 GDP	-	90 ml	异硫氰酸胍
洗涤液 BW1	110 ml	110 ml	盐酸胍
洗脱液 AE	60 ml	60 ml	10mm Tris,pH9.0, 0.5mm ETDA

【储存条件及有效期】

本试剂盒在室温贮存时, 有效期 18 个月。

【准备工作】

- 溶解蛋白酶 K/RNase A: 按标签所示, 加入蛋白酶溶解液至瓶子中, 颠倒数次, 保存于-20~8℃。
- 75%乙醇。
- 使用前, 结合液 MLE/洗涤液 BW1 按标签所示, 加入适量的异丙醇/无水乙醇进行稀释。

第一部分: 样品的裂解和消化

二代测序(检测细菌和真菌等微生物):

1. 在 2.0ml 匀浆管中, 加入不超过 150mg 粪便样品。若样品为液体, 吸取不超过 0.15ml 样品, 吸取时, 把枪头的头部剪去以方便转移。
2. 加入 0.55ml 消化液 ATL/PVP-10 和 0.55ml 去蛋白液 PCI 至样品中。用珠磨仪进行研磨或在涡旋仪上最高速度振荡 10 分钟。
使用前, 把 PVP-10 粉末倒至消化液 ATL 瓶子中, 颠倒混匀, 完全溶解后使用。
3. 65℃ 水浴 20 分钟进一步裂解样品, 14,000 x g 离心 5 分钟。
4. 转移 400µl 上清液至 1.5ml 离心管中, 加入 10µl RNase A 混匀, 放置 10 分钟,
5. 加入 20µl 蛋白酶 K 至上清液, 按第二部进行。

PCR 检测(细菌, 安全型):

1. 在 2.0ml 匀浆管中, 加入 100~200mg 粪便样品至装有研磨珠的离心管中。若样品为液体, 吸取 0.15~0.2ml 样品。吸取时, 把枪头的头部剪去以方便转移。
2. 加入 1.0ml 消化液 ATL 至样品中。用珠磨仪进行研磨样品, 或涡旋仪上最高速度振荡 5~10 分钟打散样品。
3. 14,000 x g 离心 3 分钟。转移 0.4ml 上清液至 1.5ml 离心管中, 加入 20µl 蛋白酶 K 至上清混匀, 65℃ 温育 30 分钟。
4. 加入 0.10ml 去蛋白液 PS, 涡旋混匀 10 秒。14,000 x g 离心 3 分钟。取 400µl 上清液, 按第二步进行操作。

PCR 检测(人源):

1. 在 2.0ml 离心管中, 加入 150~300mg 粪便样品。若样品为液体, 吸取 0.15~0.2ml 样品。吸取时, 把枪头的头部剪去以方便转移。
2. 加入 1.0ml 消化液 ATL 至样品中, 在涡旋仪上最高速度振荡 3~5 分钟完全打散样品, 14,000 x g 离心 3 分钟。
3. 转移 0.5ml 上清液至 1.5ml 离心管中, 加入 20µl 蛋白酶 K 至上清混匀, 55℃ 温育 10 分钟。
4. 加入 0.10ml 去蛋白液 PS, 涡旋混匀 10 秒。14,000 x g 离心 3 分钟。取 400µl 上清液, 按第二步进行操作。

第二部分：手工提取流程

1. 加入 30µl 磁珠液 MP 和 600µl 结合液 MLE (IVD3105) 或结合液 GDP (IVD3105B)。涡旋混匀 15 秒，室温静置 10 分钟，其间涡旋混匀几次。转移至磁力架上吸附 2 分钟，倒弃或吸弃溶液。
2. 加入 500µl 洗涤液 BW1，涡旋 15 秒。转移至磁力架上吸附 1 分钟，吸弃溶液。
3. 加入 500µl 洗涤液 BW1，涡旋 15 秒。转移至磁力架上吸附 1 分钟，吸弃溶液。
4. 加入 500µl 75%乙醇，涡旋 15 秒。转移至磁力架上吸附 1 分钟，吸弃溶液。
5. 加入 500µl 75%乙醇，涡旋 15 秒。转移至磁力架上吸附 1 分钟，吸弃溶液。
6. 短暂离心，吸尽残液。空气干燥 10 分钟。
7. 加入 50~100µl 洗脱液 AE，涡旋打散磁珠。55℃ 振荡温育 10 分钟。若无振荡温匀，其间涡旋混匀 2~3 次加速 DNA 的溶解。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/样品等加到深孔板对应的孔中，

孔位	预装试剂	使用前加入
第1/7排孔	600µl 结合液MLE (IVD3105) 或结合液(IVD3105B) 30µl 磁珠液MP	400µl上清液
第2/8排孔	500µl 洗涤液BW1	
第3/9排孔	500µl 洗涤液BW1	
第4/10排孔	500µl 70~75%乙醇	
第5/11排孔	500µl 70~75%乙醇	
第6/12排孔	50~100µl 洗脱液AE	

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℃。

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	600µl 结合液MLE (IVD3105) 或结合液(IVD3105B) 30µl 磁珠液MP	400µl上清液
清洗板1	500µl 洗涤液BW1，并放入96孔磁力套	

清洗板2	500µl 洗涤液BW1
清洗板3	500µl 75%乙醇
清洗板4	500µl 75%乙醇
洗脱板	50~100µl 洗脱液AE

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℃。

【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. 核酸纯度：按说明书提取100mg冻藏粪便样品，检测DNA产物时，OD260/280值在1.7-2.0，A260/230在1.2-1.8，且CV值小于10%。
3. 核酸产量：按说明书提取100mg冻藏粪便样品，检测DNA产物时，核酸产量在5~10ug，且CV值小于15%。
4. 核酸完整性：按说明书提取100mg冻藏粪便样品，DNA电泳时，DNA条带完整。

【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. 实验前请将试剂盒结合液MLE和洗涤液BW1平衡至室温（15-25℃）。
4. 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》。
5. 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：广州高新技术产业开发区玉树工业园敬业三街7号D栋401房

生产地址：广州高新技术产业开发区玉树工业园敬业三街7号D栋401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