

【产品名称】

通用名称: 核酸提取或纯化试剂 商用名称: 磁珠法 FFPE RNA DNA 共提取试剂盒 II 型

【包装规格】

48 人份 (货号 D6323-01C), 96 人份 (货号 D6323-02C), 24 人份 (货号 D6323-00C, 测试)

【预期用途】

本产品适用于从 FFPE 石蜡切片和细胞、微量组织中提取高纯度的 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 NFW 洗脱。

【主要组成成份】

货号	D6323-00C, 测试	D6323-01C	D6323-02C	主要成分
纯化次数	24 人份	48 人份	96 人份	
磁珠液 MB	0.6ml	1.1 ml	2.5 ml	磁珠液
磁珠液 MPN	0.6ml	1.1 ml	2.5 ml	磁珠液
DNase I	600 ul	600 ul	2 x 600 ul	牛胰脱氧核糖核酸酶
DNase Buffer	6 ml	6 ml	15 ml	Tris/CaCl ₂
蛋白酶 K	12 mg	24 mg	48 mg	重组蛋白酶 K
蛋白酶溶解液	1.8 ml	1.8 ml	15 ml	甘油/Tris/CaCl ₂
脱蜡液 DPS	20 ml	40 ml	80 ml	烷烃混合物
消化液 ATL	10 ml	15 ml	30 ml	Tris/EDTA/SDS
变性液 BST1	10 ml	20 ml	40 ml	异硫氰酸胍
洗涤液 MW1*	22 ml	44 ml	66 ml	盐酸胍
洗涤液 MW2*	12 ml	25 ml	50 ml	Tris/NaCl
洗脱液 EB	10 ml	10 ml	30 ml	Tris
洗脱液 RFW	10 ml	10 ml	30 ml	DEPC 处理水

【储存条件及有效期】

本产品在室温运输, 收到产品后, 把磁珠液 MPN, 磁珠液 MB, DNase I 和蛋白酶 K 保存于 2-8 度。

【准备工作】

- 溶解蛋白酶 K: 按标签加入适量的蛋白酶溶解液至瓶子中, 颠倒使之溶解, 保存于 -20~8°C。
- 洗涤液 MW1/洗涤液 MW2 按标签所示, 加入适量的无水乙醇进行稀释。

第一部分: 样品的裂解和消化

- 用手术剪刀和镊子去除石蜡包埋组织中的多余的石蜡, 用切片机切出 1~5 片 5~20 μ m 的切片, 并转移至 1.5ml 离心管中。
- 加入 700 μ l 脱蜡液 DPS 至样品中, 56°C 水浴 6 分钟, 立即涡旋混匀 15 秒让石蜡充分溶解。
- 14,000 x g 离心 3 分钟, 吸弃上清液。残留少量的液体不影响提取。若脱蜡不充分, 重复第 2-3 步一次。
- 加入 20 μ l 蛋白酶 K 和 200 μ l 消化液 ATL, 混匀, 56°C 温育 60 分钟, 90°C 温育 60 分钟。
- 13,000 x g 离心 3 分钟, 转移 200 μ l 至新的离心管中, 按第二部分进行操作。

第二部分: 手工纯化操作

- 加入 300 μ l 变性液 BST1 和 20 μ l 磁珠液 MPN 至样品中, 颠倒混匀 15~30 次, 静置 3-5 分钟。转移至磁力架上吸附 1 分钟, 转移上清液至新的离心管, 按第 12~20 步进行 RNA 抽提。保留磁珠, 按第 7~11 步进行 DNA 提取。
- 加入 500 μ l 洗涤液 MW1, 涡旋 10 秒。转移至磁力架上吸附~1 分钟。倒弃或吸弃溶液。
- 加入 500 μ l 洗涤液 MW2, 涡旋 10 秒。转移至磁力架上吸附~1 分钟。倒弃或吸弃溶液。
- 重复第 8 步一次。
- 短暂离心, 吸弃所有溶液。打开管盖, 空气干燥 10 分钟。

- 加入 30~100 μ l 洗脱液 EB, 55 $^{\circ}$ C 振荡温育~10 分钟。转移至磁力架上吸附 1 分钟, 把 DNA 转移至新的离心管中。
- 取第 6 步保留的上清液, 加入 20 μ l 磁珠液 MB 和 350 μ l 异丙醇, 涡旋 10 秒, 室温放置 6 分钟, 其间颠倒混匀次数。转移至磁力架上吸附~5 分钟, 吸弃溶液。短暂离心, 吸尽所有残液后, 室温干燥 3 分钟,
- 加入 10 μ l DNase I 和 100 μ l DNase Buffer, 重悬后转移全部混合液至新离心管中, 室温缓慢振荡温育 15~20min 消化 DNA。
- 加入 500 μ l 洗涤液 MW1, 颠倒混匀 15 次, 放置 5 分钟, 其间颠倒混匀数次。转移至磁力架上吸附 1 分钟, 吸弃溶液。
- 加入 500 μ l 洗涤液 MW1, 涡旋 15 秒。转移至磁力架上吸附 1 分钟。倒弃或吸弃溶液。
- 加入 500 μ l 洗涤液 MW2, 涡旋 10 秒。转移至磁力架上吸附 1 分钟。倒弃或吸弃溶液。
- 重复第 16 步一次。
- 短暂离心, 吸弃所有溶液。打开管盖, 空气干燥 5 分钟。
- 加入 30~50 μ l 洗脱液 RFW, 涡旋打散磁珠。室温放置 5 分钟。转移至磁力架上吸附 3 分钟, 把 RNA 转移至新的 1.5ml 离心管中。

第二部分: 32/48 通道核酸提取仪操作

- 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	300 μ l 变性液 BST1 20 μ l 磁珠液 MPN	第 5 步处理后的消化液(200 μ l)
第 2/8 排孔	500 μ l 洗涤液 MW1	
第 3/9 排孔	500 μ l 洗涤液 MW2	
第 4/10 排孔	500 μ l 洗涤液 MW2	
第 5/11 排孔	空	
第 6/12 排孔	70 μ l 洗脱液 EB (DNA 组份)	

- 打开机器, 把磁力外套插到仪器中, 并把 96 孔板放到仪器中。启动对应程序。
- 20 分钟结束, 取出 96 孔板和磁力外套。
- 第 6/12 排孔: 把 DNA 组份转移至 1.5ml 离心管中, 把产物保存于-20 $^{\circ}$ C。

- 按下表准备新的洗涤液和组份添加新的深孔板对应的孔中。

孔位	预装试剂	使用前加入
第 1/7 排孔	350 μ l 异丙醇 20 μ l 磁珠液 MB	把第一板中第 1/7 排孔余下的残液全部转移出来(500 μ l)
第 2/8 排孔	100 μ l DNase Buffer 和 10 μ l DNase I	
第 3/9 排孔	500 μ l 洗涤液 MW1	
第 4/10 排孔	500 μ l 洗涤液 MW2	
第 5/11 排孔	500 μ l 洗涤液 MW2	
第 6/12 排孔	50 μ l 洗脱液 RFW (RNA 组份)	

- 打开机器, 把磁力外套插到仪器中, 并把 96 孔板放到仪器中。启动对应程序。
- 约 15 分钟仪器暂停, 取出 96 孔板。加入 500 μ l 洗涤液 MW1 至第 2/8 排孔中, 继续执行。
- 约 10 分钟后结束。取出 96 孔板和磁力外套。
- 把 RNA 转移至 1.5ml 离心管中, 把产物保存于-20~8 $^{\circ}$ C。

附加方案 (从冻存或新鲜的组织细胞样品中提取 DNA 和 RNA)

- 组织样品:** 取不超过 5mg 新鲜或冻存组织样品, 并尽量处理成小碎片, 转移至 1.5ml 离心管中。加入 20 μ l 蛋白酶 K 和 200 μ l 消化液 ATL, 56 $^{\circ}$ C 振荡 (1200~1500rpm) 温育 15~20 分钟, 按第 1 部分或第 2 部分进行操作。
为减少组织 RNA 降解, 可以用消化液 ATL 来匀浆组织, 制成浓度不超过 25mg/ml 组织匀浆液。
- 细胞:** 离心收集不超过 2×10^6 个培养细胞或脱落细胞, 小心去除废液, 余下约 20~30 μ l 残液, 涡旋重悬细胞, 加入 20 μ l 蛋白酶 K 和 200 μ l 消化液 ATL, 56 $^{\circ}$ C 室温放置 20 分钟, 转移上清液按第 1 部分或第 2 部分进行操作。

【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

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