

【产品名称】

通用名称：核酸提取或纯化试剂

商用名称：柱法 FFPE RNA/DNA 共提试剂盒

【包装规格】

50 人份 (货号 IVD5116), 版本: C 型

【预期用途】

本产品适用于从 FFPE 样本中同时提取 RNA 和 DNA, 提取产物可用于临床体外检测使用。

【检验原理】

本产品基于硅胶柱纯化方式。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, DNA 或 RNA 经调节后, 会吸附在柱子的滤膜, 而蛋白质等杂质则不被吸附而去除。吸附了核酸的滤膜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/RNA 被洗脱。

【主要组成成份】

货号	IVD5116-20	IVD5116	主要成分
DNA 吸滤柱 I (红色)	20	50	纯化柱
RNA 吸附柱 I (红色)	20	50	纯化柱
收集管	50	100	塑料管
蛋白酶 K	12 mg	24 mg	重组蛋白酶 K
蛋白酶溶解液	1.8 ml	1.5 ml	Tris/CaCl ₂ /甘油
脱蜡液 DPS	30 ml	60 ml	烷烃混和物
消化液 ATL	10 ml	15 ml	Tris/EDTA/SDS
结合液 GXP	10 ml	20 ml	异硫氰酸胍
洗涤液 VHB	13 ml	26 ml	异硫氰酸胍
洗涤液 RW2	10 ml	25 ml	Tris/NaCl
洗脱液 NFW	10 ml	10 ml	DEPC 处理水

【储存条件及有效期】

本产品室温下运输, 收到产品后, 把蛋白酶 K 保存于-20-8℃。其它组份保存于室温, 有效期 18 个月。

【准备工作】

- 溶解蛋白酶 K: 加入 0.6ml/1.2ml 蛋白酶溶解液至瓶子中, 溶解后保存于-20~8℃。
- 使用前, 洗涤液 VHB/洗涤液 RW2 按标签所示, 加入适量的无水乙醇进行稀释。

第一部分: 样品裂解和消化**A. 组织切片(不脱蜡方案)**

- 转移不超过 5 个石蜡切片至 1.5ml 离心管中, 14,000 x g 离心 1 分钟或用镊子把切片挤到离心管底部。加入 250µl Buffer ATL 和 20µl Proteinase K, 65 度 800rpm 振荡 1 小时。
- 90 度温育 1 小时。
- 14000 x g 离心 3 分钟, 用移液枪头拨开或穿过石蜡层, 取 200µl 下层消化至新的离心管中。

B. 组织切片(标准方案)

- 用手术刀去除多余石蜡, 切取数个(<5 片)切片并转移至 1.5~2.0ml 离心管中, 加入 900µl 脱蜡液 DPS, 56℃ 振荡温育 10 分钟充分熔化石蜡。
- 碰到高熔点石蜡, 提高温育至 65℃ 以充分熔化石蜡
- 13,000 x g 离心 3 分钟, 小心吸弃脱蜡液, 残留少量的液体不影响提取。
- 若这一步石蜡去除不充分, 重复第 1-2 步。
- 加入 200µl 消化液 ATL 和 20µl 蛋白酶 K, 56℃ 振荡温育 60 分钟, 90℃ 温育 60 分钟。
- 13,000 x g 离心 1 分钟。按第二步的 DNA/RNA 流程进行操作。

第二部分：过柱纯化

DNA 提取

1. 取 A 第 3 步消化液或 B 第 6 步获得的上清液，加入 400μl 结合液 GXP，涡旋混匀 10 秒。
2. 若有沉淀未能完全溶解，于 37-50℃ 温育 2-3 分钟使之溶解。
3. 把 DNA 吸附柱装在 2ml 收集管中。**转移混合液至柱子中**，10,000 × g 离心 60 秒。
4. 保存滤液，用于 RNA 提取。把柱子装回收集管中，**加入 500μl 洗涤液 VHB**，10,000 × g 离心 30-60 秒。
5. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中，**加入 500μl 洗涤液 RW2**，10,000 × g 离心 30-60 秒。
6. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中，**加入 500μl 洗涤液 RW2**，10,000 × g 离心 30-60 秒。
7. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。13,000 × g 离心 2 分钟，以甩干柱子的基质。
8. 将柱子转移至新的 1.5ml 离心管，**加入 20-50μl 预热至 56℃洗脱液 NFW 至柱子的膜中央**。放置 3 分钟，13,000 × g 离心 1 分钟。
9. 丢弃 DNA 结合柱，把 DNA 保存于 2-8℃，长期保存需保存于-20℃或-80℃。

RNA 提取

10. 把第二部分的第 3 步的滤液转移至新的离心管中，加入 500μl 无水乙醇，涡旋混匀 10 秒。
11. **把 RNA 吸附柱装在 2ml 收集管中。转移一半体积的混合液至柱子中**。10,000 × g 离心 30-60 秒。
12. 倒弃滤液，把柱子装在收集管中。转移剩余混合液至柱子中。10,000 × g 离心 30-60 秒。
13. 倒弃滤液，把柱子装在收集管中。**加入 500μl 洗涤液 VHB 至柱子**，10,000 × g 离心 30-60 秒。
14. 倒弃滤液，把柱子装在收集管中。**加入 500μl 洗涤液 RW2 至柱子**，10,000 × g 离心 30-60 秒。
15. 倒弃滤液，把柱子装在收集管中。**加入 500μl 洗涤液 RW2 至柱子**，10,000 × g 离心 30-60 秒。
16. 倒弃流出液，把柱子装在收集管中。13,000 × g 离心空柱 3 分钟，以甩干柱子的基质。
17. 将柱子转移至新的 1.5ml 离心管。**加入 15-50μl 洗脱液 NFW 至柱子的膜中央**。静置 1 分钟。

13,000 × g 离心 1 分钟。

18. 弃去柱子，把 RNA 保存于-80℃。

【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 2.5mg 经福尔马林固定的肝脏，检测产物时，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 2.5mg 经福尔马林固定的肝脏，检测 DNA 产物时，核酸产量在 2~5ug，检测 RNA 产物时，核酸产量在 2~5ug，且 CV 值小于 15%。

【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

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