

【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 提取试剂盒

【包装规格】

200 人份 (货号 IVD3022)

【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, 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/RNA 释放到消化液中, 加入磁性粒子和结合液后, DNA/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 DNA/RNA 粒子经洗涤液洗涤去除蛋白质和杂质, 再经过 DNase I 消化去除 DNA, 重结合后, 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	IVD3022	主要成分
磁珠液 MB	5.5 ml	磁珠
蛋白酶 K	120 mg	重组蛋白酶 K
DNase I	4 x 600 μ l	牛胰腺脱氧核糖核酸酶
DNase Buffer	30 ml	Tris/MgCl ₂ /CaCl ₂
蛋白酶溶解液	6 ml	甘油/Tris/CaCl ₂
脱蜡液 DPS	160 ml	烷烃混和物
消化液 FRL	60 ml	Tris/EDTA/SDS
变性液 AL	60 ml	NaAC/Tween-20/盐酸胍
洗涤液 MW1	110 ml	盐酸胍
洗涤液 MW2	2 x 50 ml	Tris/NaCl
洗脱液 NFW	30 ml	DEPC 处理水

【储存条件及有效期】

本产品除 DNase I 外, 其它组份室温运输和保存, 有效期 18 个月。DNase I 冰盒运输, 收到产品后放置于 -20°C, 长期保存 (>3 个月) 把蛋白酶 K 和磁珠液 MB 放置于 2-8°C。

【准备工作】

- 溶解蛋白酶 K: 加入 6ml 蛋白酶溶解液至瓶子中, 颠倒数次后保存于 -20~-8°C。
- 使用前, 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

A. FFPE 样品

- 用手术刀去除多余石蜡, 切取数个 (<6 片) 切片并转移至 1.5~2.0ml 离心管中。
- 加入 700 μ l 脱蜡液 DPS, 颠倒混匀让切片完全浸泡于脱蜡液 DPS 中, 56°C 水浴 5 分钟, 立即涡旋混匀 15 秒让石蜡充分溶解。
- 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 2-3 步一次。
- 加入 150 μ l 消化液 FRL 和 20 μ l 蛋白酶 K, 涡旋 10 秒。
- 56°C 温育 15~30 分钟, 80°C 温育 15~30 分钟。
- 加入 150 μ l 变性液 AL 至样品中, 涡旋混匀 10 秒。按第二部分进行操作。

B. 血液或细胞悬液

- 在 1.5ml 离心管中, 加入 20 μ l 蛋白酶 K。
- 转移 200 μ l 血液、淋巴细胞悬液、白膜层, 细胞悬液至装有蛋白酶 K 的离心管中。振荡混匀 5 秒。
- 加入 200 μ l 变性液 AL, 涡旋混匀 15 秒, 室温放置 15 分钟。按第二部分进行操作。

C. 组织样品 (<5mg 组织样品)

- 取 5~10mg 组织样品, 加入 300~500 μ l 裂解液 RTL (另外订购), 用匀浆器进行充分匀浆。
- 取 300 μ l 匀浆液, 加入 150 μ l 消化液 FRL 和 20 μ l 蛋白酶 K 混匀, 55°C 振荡温育 10~15 分钟。
- 13,000 x g 离心 3 分钟, 按第二部分进行操作。

第二部分: 手工纯化操作

- 在 1.5ml 离心管中, 加入 25 μ l 磁珠液 MB 和 300 μ l 异丙醇。
- 转移 300 μ l 消化液 (第一部分) 至装有磁珠的管子中, 颠倒混匀 15~30 次。室温静置 5 分钟, 其间颠倒混匀数次。转移至磁力架上吸附 5~10 分钟。倒弃或吸弃溶液。
 - 处理血液, 细胞悬液, 组织样品, 这一步加入 400 μ l 消化液。
- 加入 500 μ l 洗涤液 MW1, 涡旋 15 秒。转移至磁力架上吸附 1~3 分钟。倒弃或吸弃溶液。
- 短暂离心, 吸尽残液。加入 90 μ l DNase Buffer 和 10 μ l DNase I, 振荡重悬磁珠, 室温放置 10 分钟消化 DNA。
- 加入 400 μ l 洗涤液 MW1 至样品中, 颠倒混匀 15~30 次。室温静置 5 分钟, 其间颠倒混匀数次。转移至磁力架上吸附 1~3 分钟。倒弃或吸弃溶液。
- 加入 500 μ l 洗涤液 MW2, 涡旋 15 秒重悬磁珠。转移至磁力架上吸附 1 分钟。倒弃或吸弃溶液。

7. 重复第6步一次。
8. 短暂离心，转移至磁力架上，吸弃所有溶液。打开管盖，空气干燥5分钟。
9. 加入20~50 μ l 洗脱液 NFW，振荡1~2分钟。
10. 转移至磁力架上吸附5分钟，把RNA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	300 μ l 异丙醇 25 μ l 磁珠液MB	300 μ l石蜡消化液 或400 μ l消化液(细胞/组织/血液)
第2/8排孔	500 μ l 洗涤液MW1	
第3/9排孔	90 μ l DNase Buffer和10 μ l DNase I	
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	30~50 μ l 洗脱液NFW	

2. 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。
3. 约20分钟后，仪器暂停，取出96孔板。
4. 加入400 μ l 洗涤液 MW1 至第3/9排孔中，继续执行。
5. 约30分钟后，结束。取出96孔板和磁力外套。
6. 把RNA转移至1.5ml离心管中，把产物保存于-20~8 $^{\circ}$ C。

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	300 μ l 异丙醇 25 μ l 磁珠液MB	300 μ l消化液 或400 μ l消化液(细胞/组织/血液)
清洗板1	500 μ l 洗涤液MW1，并放入96孔磁力套	
清洗板2	100 μ l DNase Buffer和10 μ l DNase I	
清洗板3	500 μ l 洗涤液 MW2	
清洗板4	500 μ l 洗涤液MW2	
洗脱板	30~50 μ l 洗脱液NFW	

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20分钟后，仪器暂停，取出样品板。
4. 加入400 μ l 洗涤液 MW1 至样品板中，继续执行。
5. 约30分钟后，结束。取出96孔板和磁力外套。
6. 把产物保存于-20~8 $^{\circ}$ 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。

【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：按说明书处理2.5mg肝脏样品，检测时，OD260/280值在1.8-2.0，A260/230在1.5-2.0，且CV值小于10%。
3. 核酸产量：根据说明书提取2.5mg肝脏样品时，检测时，产量在5~15 μ g，且CV值小于15%。
4. 核酸完整性：根据说明书提取2.5mg肝脏样品时，取1 μ g RNA产物电泳时，RNA不降解。

【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