

### 【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 <sub>2</sub> |
| 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】

本产品在室温贮存和运输, 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℃。
- 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℃。

### 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℃ 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℃ 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 5x10<sup>6</sup> 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℃ 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℃, 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℃ 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 150µl Buffer TE/Lysozyme (3mg/ml) 重悬细菌, 室温静置 15 分钟。加入 150µl 消化液 ATL、10µl RNase A 和 20µl Proteinase K, 65℃ 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 30 $\mu$ l 磁珠液 MP 和 600 $\mu$ l 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 600 $\mu$ l 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 600 $\mu$ l 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 600 $\mu$ l 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 600 $\mu$ l 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 50~100 $\mu$ l 洗脱液 EB，55 $^{\circ}$ 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  | 600 $\mu$ l 结合液MLA                         | 转移250-350 $\mu$ l消化液或样品（第一部分） |
| 第2/8排孔  | 600 $\mu$ l 洗涤液MWX1                        |                               |
| 第3/9排孔  | 600 $\mu$ l 洗涤液DW1                         |                               |
| 第4/10排孔 | 600 $\mu$ l Buffer EW<br>30 $\mu$ l 磁珠液 MP |                               |
| 第5/11排孔 | 600 $\mu$ l Buffer EW                      |                               |
| 第6/12排孔 | 120 $\mu$ l 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 $^{\circ}$ 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。

### 【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
- 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  | 结合   | 0     | 600 秒 | 90 秒  | 快  | 800 | 55 |
| 3  | 2  | 清洗 1 | 0     | 120 秒 | 60 秒  | 快  | 600 | 关闭 |
| 4  | 3  | 清洗 2 | 0     | 180 秒 | 60 秒  | 快  | 600 | 关闭 |
| 5  | 4  | 清洗 3 | 0     | 60 秒  | 60 秒  | 快  | 600 | 关闭 |
| 6  | 5  | 清洗 4 | 0     | 6 秒   | 90 秒  | 快  | 600 | 关闭 |
| 7  | 6  | 洗脱   | 300 秒 | 720 秒 | 120 秒 | 快  | 100 | 55 |
| 8  | 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。