

**【产品名称】**

通用名称：核酸提取或纯化试剂

商用名称：磁珠法游离 DNA 大量提取试剂盒

**【包装规格】**

50 人份 (货号 IVD5435), 版本：磁珠 MPF

**【预期用途】**

本产品适用于从各种 1~6ml 血清、血浆、体液、积液等样品中提取游离 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纯化方式。样品在消化液和蛋白酶 K 作用下得到 DNA 消化液，加入磁性粒子和结合液，DNA 会吸附在磁性粒子表面，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 DNA 被洗脱液 EB 洗脱。

**【主要组成成份】**

| 货号              | IVD5435-10,测试 | IVD5435 | 主要成分                       |
|-----------------|---------------|---------|----------------------------|
| 磁珠液 MPF         | 3 ml          | 16 ml   | 磁珠液                        |
| Carrier RNA     | 110 ug        | 110 ug  | Poly A                     |
| 蛋白酶 K           | 70 mg         | 220 mg  | 重组蛋白酶                      |
| 蛋白酶溶解液          | 5 ml          | 30 ml   | Tris/CaCl <sub>2</sub> /甘油 |
| Buffer SDS(20%) | 3 ml          | 20 ml   | SDS                        |
| 结合液 MLK         | 120 ml        | 550 ml  | 异硫氰酸胍/表面活性剂                |
| 洗涤液 MAW1        | 30 ml         | 250 ml  | 异硫氰酸胍                      |
| 洗涤液 MW2         | 20 ml         | 100 ml  | Tris/NaCl                  |
| 洗脱液 EB          | 5 ml          | 15 ml   | 10mm Tris,pH8.5            |

**【储存条件及有效期】**

本产品室温运输和保存，有效期 18 个月。

**【准备工作】**

- 溶解蛋白酶 K: 加入 3.5ml/17ml 蛋白酶溶解液至瓶子中，颠倒数次后保存于-20~8℃。
- 溶解 Carrier RNA: 加入 1ml 洗脱液 EB 和 10μl 蛋白酶 K 至瓶子中，振荡 3 分钟后保存于-20
- 使用前，洗涤液 MW2 按标签所示，加入适量的无水乙醇进行稀释。若下游应用对盐离子敏感，用 80%乙醇代替洗涤液 MW2。

**A: 手工纯化操作(不超过 4ml)**

1. 样品体积，与蛋白酶 K/磁珠 MPF/结合液 MLK 用量的关系。

| 样品体积            | 1 ml  | 2 ml     | 3 ml      | 4 ml   |
|-----------------|---|----------|-----------|--------|
| 蛋白酶 K           | 50 μl   | 100μl    | 150μl     | 200μl  |
| 磁珠液 MPF         | 75 μl   | 150μl    | 200μl     | 300 μl |
| Buffer SDS      | 50 μl   | 100 μl   | 150 μl    | 200 μl |
| 结合液 MLK         | 1.9 ml  | 3.8 ml   | 5.6 ml    | 7.5 ml |
| 洗脱体积            | 35-50 μl  | 50~60 μl | 70~100 μl |        |
| Carrier RNA(可选) | 0.2~1ug (Carrier RNA 会影响 Qubti 读数，但实验证明添加量在 0.2~0.5ug Carrier RNA 时，有利于稳定游离 DNA 的产量，且基本不影响 qubit 读数，为更真实的浓度，Carrier RNA 可以不加) |          |           |        |

2. 先转移蛋白酶 K 和 Carrier RNA 至 5~15ml 的离心管。然后转移 1~4ml 样品至离心管中。
3. 加入 Buffer SDS 至样品中，颠倒混匀数次。55℃温育~30 分钟，其间颠倒数次。室温放置~5 分钟让消化液恢复至室温。
4. 加入结合液 MLK 和磁珠 MPF 至样品中，室温颠倒混匀 10 分钟。转移至磁力架上，静置~5 分钟吸附磁珠，吸弃溶液，短暂离心后，吸尽残液。
5. 加入 1.0 ml 洗涤液 MAW1，涡旋 5 秒，颠倒 10~15 次。转移至磁力架吸附~1 分钟，吸弃溶液。
6. 重复第 5 步一次。
7. 加入 1.0 ml 洗涤液 MW2，涡旋 5 秒，颠倒 10~15 次。转移至磁力架吸附 1 分钟，吸弃溶液。
8. 重复第 7 步一次。
9. 短暂离心后，吸尽残液。37℃金属浴干燥 10~15 分钟让磁珠完全干燥。
10. 加入 40~100μl 洗脱液 EB 至样品中，37℃振荡温育 5 分钟让 DNA 充分溶解。转移至磁力架上吸附 1 分钟，把 DNA 转移至新的离心管中。
11. 短暂离心收集残液，再把余下的 DNA 转移至第 11 步的离心管中。

**B: 手工纯化操作(4~8ml, 双结合)**

1. 样品体积，与蛋白酶 K/磁珠 MPF/结合液 MLK 用量的关系。

| 样品体积        | 4 ml  | 5 ml   | 6 ml    | 7 ml   | 8 ml   |
|-------------|---|--------|---------|--------|--------|
| 蛋白酶 K       | 200 μl  | 250 μl | 300 μl  | 300μl  | 300μl  |
| 磁珠液 MPF     | 200 μl  | 200 μl | 200 μl  |        | 300 μl |
| Buffer SDS  | 200 μl  | 250 μl | 300 μl  | 350 μl | 400 μl |
| 结合液 MLK     | 7.5 ml  | 9 ml   | 10.5 ml | 13 ml  | 15 ml  |
| 洗脱体积        | 70~100 μl   |        |         |        |        |
| Carrier RNA | 0.2~1ug (Carrier RNA 会影响 Qubti 读数，但实验证明添加量在 0.5ug Carrier |        |         |        |        |

|  |
|--|
| RNA 时, 有利于稳定游离 DNA 的产量, 且基本不影响 qubit 读数) |
|--|

- 先转移蛋白酶 K 和 Carrier RNA 至 15~50ml 的离心管。然后转移 4~8ml 样品至离心管中,
- 加入 Buffer SDS 至样品中, 颠倒混匀数次。55℃温育 30~60 分钟, 其间颠倒混匀数次。室温放置 5~10 分钟让消化液恢复至室温。
- 加入结合液 MLK 至样品中, 颠倒混匀 5~10 次。**
- 转移一半消化液至 15ml 离心管中, 加入 150~300µl 磁珠液 MPF, 室温颠倒混匀~5 分钟。转移样品至磁力架, 静置~5 分钟吸附磁珠, 吸弃溶液。(这一步可用离心代替: 3000xg 离心 5 分钟)
- 把余下的消化液转移至含磁珠的离心管中, 涡旋 10 秒重悬磁珠。室温颠倒混匀~5 分钟。转移至磁力架上, 静置~5 分钟吸附磁珠, 吸弃溶液。短暂离心后, 吸尽残液。
- 加入 1.2 ml 洗涤液 MAW1, 涡旋 5 秒, 颠倒 10 次。**转移至磁力架吸附 1~2 分钟, 吸弃溶液。
- 加入 1.2 ml 洗涤液 MAW1, 涡旋 5 秒, 颠倒 10 次。**转移至磁力架吸附 1~2 分钟, 吸弃溶液。短暂离心后, 吸尽残液。
- 加入 1.2 ml 洗涤液 MW2, 涡旋 5 秒, 颠倒 10 次。**转移至磁力架吸附 1 分钟, 吸弃溶液。
- 加入 1.2 ml 洗涤液 MW2, 涡旋 5 秒, 颠倒 10 次。转移全部样品至 1.5ml 离心管中, 转移至磁力架吸附 1 分钟, 吸弃溶液。**
- 短暂离心后, 吸尽残液。37℃金属浴干燥 10~15 分钟让磁珠完全干燥。
- 加入 50~80µl 洗脱液 EB 至样品中, 37℃振荡温育~10 分钟让 DNA 充分溶解。**转移至磁力架上吸附 1 分钟, 把 DNA 转移至新的离心管中。
- 短暂离心收集残液, 再把余下的 DNA 转移至第 12 步的离心管中。

### C: 96 通道核酸提取仪操作(1~6ml)

- 样品体积与蛋白酶 K/磁珠 MPF/结合液 MLK 用量的关系。

| 样品体积        | 1 ml  | 2 ml    | 3 ml    | 4 ml   | 5 ml   | 6 ml   |
|-------------|---|---------|---------|--------|--------|--------|
| 蛋白酶 K       | 50 µl   | 100µl   | 150µl   | 200µl  | 250µl  | 300 µl |
| 磁珠液 MPF     | 75µl  | 100µl   | 150µl   | 150µl  | 200µl  |        |
| Buffer SDS  | 50 µl   | 100 µl  | 150 µl  | 200 µl | 250 µl | 300 µl |
| 结合液 MLK     | 1.9 ml  | 3.5 ml  | 5.2ml   | 7.0 ml | 8.5 ml | 9 ml   |
| 洗脱体积        | 50~70 µl  | 60~70µl | 75~90µl |        |        |        |
| Carrier RNA | 0.5~1µg (Carrier RNA 会影响 Qubit 读数, 但实验证明添加量在~0.5µg Carrier RNA 时, 有利于稳定游离 DNA 的产量, 且基本不影响 qubit 读数) |         |         |        |        |        |

- 转移蛋白酶 K 和 Carrier RNA 至 15~50ml 的离心管。然后转移 1~6ml 样品至离心管中。
- 加入 Buffer SDS 至样品中, 颠倒混匀数次。55℃温育~30 分钟, 其间颠倒混匀数次。室温放置 5~10 分钟让消化液恢复至室温。
- 加入结合液 MLK 至样品中, 颠倒混匀 5~10 次。**
- 按下表把消化液加到 24 孔板中。

| 样品量  | 需要准备的样品板       |                |               |
|------|----------------|----------------|---------------|
|      | 样品板A           | 样品板B           | 样品板C          |
| 1 ml | 全部消化液(~3.0ml)  | 无              | 无             |
| 2 ml | 0.5倍消化液(2.8ml) | 0.5倍消化液(2.8ml) | 无             |
| 3 ml | 0.5倍消化液(4.3ml) | 0.5倍消化液(4.3ml) |               |
| 4 ml | 1/3消化液(3.8ml)  | 1/3消化液(3.8ml)  | 1/3消化液(3.8ml) |
| 5 ml | 1/3消化液(4.6ml)  | 1/3消化液(4.6ml)  | 1/3消化液(4.6ml) |
| 6 ml | 1/3消化液(5ml)    | 1/3消化液(5ml)    | 1/3消化液(5ml)   |

- 按下表把清洗液和磁珠加入 24 孔板中。

|      |  |
|------|--|
| 清洗板1 | 3000µl 洗涤液 MAW1、70~200µl 磁珠液 MPF、24 孔磁力套 |
| 清洗板2 | 3000µl 洗涤液 MW2                           |
| 清洗板3 | 3000µl 洗涤液 MW2                           |
| 清洗板4 | 500µl 无水乙醇                               |
| 洗脱板  | 75~90µl 洗脱液 EB                           |

- 打开机器, 启动对应程序, 按提示把 96 孔板放到仪器中。
- 约 40~60 分钟结束, 取出 24 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】

- 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。
- 核酸回收率: 按说明书处理 100ng DNA 样品时, DNA 回收率超过 80%, 且 CV 值小于 10%。
- 短片回收率: 按说明书处理 100bp DNA Marker 时, 100bp DNA 片段要超过 80%。

### 【注意事项】

- 本品仅用于体外诊断。
- 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》。
- 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 号