

**【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：粪便

**【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                        |
| 蛋白酶 K           | 60 mg         | 220 mg  | 重组蛋白酶                      |
| 蛋白酶溶解液          | 5 ml          | 15 ml   | Tris/CaCl <sub>2</sub> /甘油 |
| Buffer SDS(20%) | 3 ml          | 20 ml   | SDS                        |
| Buffer PS       | 15 ml         | 60 ml   | 醋酸钾                        |
| 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 3ml/11ml 蛋白酶溶解液至瓶子中，颠倒数次后保存于-20~8℃。
- 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。

**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      | 25 $\mu$ l    | 50 $\mu$ l    | 75 $\mu$ l     | 100 $\mu$ l |
| 磁珠液 MPF    | 75 $\mu$ l    | 150 $\mu$ l   | 200 $\mu$ l    | 300 $\mu$ l |
| Buffer SDS | 50 $\mu$ l    | 100 $\mu$ l   | 150 $\mu$ l    | 200 $\mu$ l |
| Buffer PS  | 0.25 ml       | 0.5 ml        | 0.75ml         | 1ml         |
| 结合液 MLK    | 2.1 ml        | 4.2 ml        | 6.3 ml         | 8.4 ml      |
| 洗脱体积       | 35-50 $\mu$ l | 50~60 $\mu$ l | 70~100 $\mu$ l |             |

2. 先转移蛋白酶 K 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。
4. 加入 0.25 倍体积的 Buffer PS 至样品中，颠倒混匀 10-15 次，冰上放置 10 分钟。4,000~10,000 x g 离心 10 分钟去除杂质，转移上清液至新的离心管中。
5. 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。
6. 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。
7. 重复第 5 步一次。
8. 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。
9. 重复第 7 步一次。
10. 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。
11. 加入 40~100 $\mu$ l 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。
12. 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, 双次结合)**

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      | 100 $\mu$ l | 125 $\mu$ l | 150 $\mu$ l | 175 $\mu$ l | 200 $\mu$ l |
| 磁珠液 MPF    | 200 $\mu$ l | 200 $\mu$ l | 200 $\mu$ l |             | 300 $\mu$ l |
| Buffer SDS | 200 $\mu$ l | 250 $\mu$ l | 300 $\mu$ l | 350 $\mu$ l | 400 $\mu$ l |
| Buffer PS  | 1 ml        | 1.25ml      | 1.5 ml      | 1.75 ml     | 2.0 ml      |

|         |                |         |         |         |         |
|---------|----------------|---------|---------|---------|---------|
| 结合液 MLK | 8.4 ml         | 10.5 ml | 12.6 ml | 14.7 ml | 16.8 ml |
| 洗脱体积    | 70~100 $\mu$ l |         |         |         |         |

- 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 0.25 倍体积的 Buffer PS 至样品中，颠倒混匀 10-15 次，冰上放置 10 分钟。4,000~10,000 x g 离心 10 分钟去除杂质，转移上清液至新的离心管中。
- 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 150~300 $\mu$ l 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 50~80 $\mu$ l 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: 24 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      | 25 $\mu$ l    | 50 $\mu$ l    | 75 $\mu$ l    | 100 $\mu$ l | 125 $\mu$ l | 150 $\mu$ l |
| 磁珠液 MPF    | 75 $\mu$ l    | 100 $\mu$ l   | 150 $\mu$ l   | 150 $\mu$ l | 200 $\mu$ l |             |
| Buffer SDS | 50 $\mu$ l    | 100 $\mu$ l   | 150 $\mu$ l   | 200 $\mu$ l | 250 $\mu$ l | 300 $\mu$ l |
| Buffer PS  | 0.25 ml       | 0.5ml         | 0.75 ml       | 1ml         | 1.25ml      | 1.5ml       |
| 结合液 MLK    | 2.1 ml        | 4.2 ml        | 6.3ml         | 8.4 ml      | 10.5 ml     | 12.6 ml     |
| 洗脱体积       | 50~70 $\mu$ l | 60~70 $\mu$ l | 75~90 $\mu$ l |             |             |             |

- 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 | 3000 $\mu$ l 洗涤液 MAW1、70~200 $\mu$ l 磁珠液 MPF、24 孔磁力套 |
| 清洗板2 | 3000 $\mu$ l 洗涤液 MW2                                 |
| 清洗板3 | 3000 $\mu$ l 洗涤液 MW2                                 |
| 清洗板4 | 500 $\mu$ l 无水乙醇                                     |
| 洗脱板  | 75~90 $\mu$ l 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%。
- 短片段回收率：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