

### 【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 DNA 共提取试剂盒 II 型

### 【包装规格】

200 人份 (货号 IVD3026), 版本：磁珠 MPN

### 【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 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 作用下分步裂解消化得到 DNA 和 RNA 消化液，加入磁性粒子和结合液，DNA 或 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 RNA 被洗脱液 NFW 洗脱。

### 【主要组成成份】

货号	IVD3026-50	IVD3026	主要成分
磁珠液 MPN	2.5 ml	9 ml	磁珠液
蛋白酶 K	24 mg	90 mg	重组蛋白酶 K
蛋白酶溶解液	1.8 ml	6 ml	甘油/Tris/CaCl <sub>2</sub>
脱蜡液 DPS	60 ml	160 ml	烷烃混和物
消化液 ATL	15 ml	60 ml	Tris/EDTA/SDS
变性液 BST1	20 ml	80 ml	NaAC/Tween-20/盐酸胍
洗涤液 MW1	44 ml	2 x 110 ml	盐酸胍
洗涤液 MW2	20 ml	2 x 50 ml	Tris/NaCl
洗脱液 NFW	15 ml	60 ml	DEPC 处理水

### 【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 Proteinase K: 加入 1.2ml/4.5ml 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 MW1/MW2 按标签所示，加入适量的无水乙醇进行稀释。
- 若需彻底去除 RNA 组份的中 DNA 污染，请另外订购 DNase Set (R4911-01)

### 第一部分：样品的裂解和消化

1. 用手术剪刀和镊子去除石蜡包埋组织中的多余的石蜡，用切片机切出 1~6 片 5~20μm 的切片，并转移至 1.5ml 离心管中。
2. 加入 700μl 脱蜡液 DPS 至样品中，涡旋 5 秒，让切片完全浸泡于脱蜡液 DPS 中。56℃ 水浴 6 分钟，立即涡旋混匀 15 秒让石蜡充分溶解。
3. 14,000 x g 离心 3 分钟，吸弃上清液。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。
4. 加入 20μl 蛋白酶 K 和 200μl 消化液 ATL 至样品中，吸打混匀几次。56℃ 温育 60 分钟，90℃ 温育 30 分钟。
5. 13,000 x g 离心 3 分钟，转移 200μl 至新的离心管中，按第二步进行操作。

### 第二部分：手工纯化操作

6. 加入 300μl 变性液 BST1 和 20μl 磁珠液 MPN 至样品中，颠倒混匀 15~30 次。转移至磁力架上吸附~3 分钟，转移上清液至新的离心管，按第 12~20 步进行 RNA 抽提。保留磁珠，按第 7~11 步进行 DNA 提取。
7. 加入 500μl 洗涤液 MW1，涡旋 10 秒。转移至磁力架上吸附~1 分钟。倒弃或吸弃溶液。
8. 加入 500μl 洗涤液 MW2，涡旋 10 秒。转移至磁力架上吸附~1 分钟。倒弃或吸弃溶液。
9. 重复第 8 步一次。
10. 短暂离心，吸弃所有溶液。打开管盖，空气干燥 5 分钟。
11. 加入 50~100μl 洗脱液 NFW，55℃ 振荡温育~5 分钟。转移至磁力架上吸附 3 分钟，把 DNA 转移至新的离心管中。
12. 取第 6 步保留的上清液，加入 20μl 磁珠液 MPN 和 350μl 异丙醇，涡旋 10 秒，室温放置 5 分钟，其间颠倒混匀次数。转移至磁力架上吸附~5 分钟，吸弃溶液。
13. (可选:进一步去除 DNA) 短暂离心，吸尽所有残液后，室温干燥 3 分钟，加入 10ul DNase I 和 140ul DNase Buffer，吸打重悬磁珠，室温缓慢振荡温育 10min 消化 DNA。加入 500μl 洗涤液 MW1，颠倒混匀 15-30 次，放置 5 分钟，其间颠倒混匀数次。转移至磁力架上吸附 1 分钟，吸弃溶液。
14. 加入 500μl 洗涤液 MW1，涡旋 15 秒。转移至磁力架上吸附 1 分钟。倒弃或吸弃溶液。
15. 加入 500μl 洗涤液 MW2，涡旋 10 秒。转移至磁力架上吸附 1 分钟。倒弃或吸弃溶液。
16. 重复第 15 步一次。
17. 短暂离心，吸弃所有溶液。打开管盖，空气干燥 5 分钟。
18. 加入 30~50μl 洗脱液 NFW，涡旋打散磁珠。室温放置 5 分钟。转移至磁力架上吸附 3 分钟，把 RNA 转移至新的 1.5ml 离心管中。

## 第二部分：32/48 通道核酸提取仪操作

### 不含 DNase 消化程序

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	300µl 变性液BST1 20µl 磁珠液MPN	第5步处理后的消化液(150µl)
第2/8排孔	500µl 洗涤液MW1	
第3/9排孔	500µl 洗涤液 MW2	
第4/10排孔	500µl 洗涤液MW2	
第5/11排孔	50µl 洗脱液NFW (RNA组份)	
第6/12排孔	50µl 洗脱液NFW (DNA组份)	

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 分钟仪器暂停，取出 96 孔板，加入 400µl 异丙醇至第 1/7 排孔中。
4. 约 15 分钟后，结束。取出 96 孔板和磁力外套。
5. 第 5/11 排孔：把 RNA 组分转移至 1.5ml 离心管中，把产物保存于-20℃。
6. 第 6/12 排孔：把 DNA 组份转移至 1.5ml 离心管中，把产物保存于-20℃。

### 含 DNase 消化程序（双板）

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	300µl 变性液BST1 20µl 磁珠液MPN	第5步处理后的消化液(150µl)
第2/8排孔	500µl 洗涤液MW1	
第3/9排孔	500µl 洗涤液 MW2	
第4/10排孔	500µl 洗涤液MW2	
第5/11排孔	空	
第6/12排孔	70µl 洗脱液NFW (DNA组份)	

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. 20 分钟结束，取出 96 孔板和磁力外套。
4. 第 6/12 排孔：把 DNA 组份转移至 1.5ml 离心管中，把产物保存于-20℃。
5. 按下表准备新的洗涤液和组份添加新的深孔板对应的孔中。

孔位	预装试剂	使用前加入
第1/7排孔	400µl异丙醇 20µl 磁珠液MPN	把第一板中第1/7排孔余下的残液全部转移出来(500ul)

第2/8排孔	500µl 洗涤液MW1
第3/9排孔	140µl DNase I 和 10µl DNase I
第4/10排孔	500µl 洗涤液 MW2
第5/11排孔	500µl 洗涤液MW2
第6/12排孔	50µl 洗脱液NFW (RNA组份)

6. 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。
7. 约 15 分钟仪器暂停，取出 96 孔板。加入 500µl 洗涤液 MW1 至第 3/9 排孔中，继续执行。
8. 约 10 分钟后结束。取出 96 孔板和磁力外套。
9. 把 RNA 转移至 1.5ml 离心管中，把产物保存于-20~-8℃。

### 附加方案(消化分选法提取 DNA 和 RNA， 优点：RNA 完整性更好)

1. 用手术剪刀和镊子去除石埋包埋组织中的多余的石蜡，用切片机切出 1~6 片 5~20µm 的切片，并转移至 1.5ml 离心管中。
2. 加入 700µl 脱蜡液 DPS 至样品中，涡旋 5 秒，让切片完全浸泡于脱蜡液 DPS 中。56℃ 水浴 6 分钟，立即涡旋混匀 15 秒让石蜡充分溶解。
3. 14,000 x g 离心 3 分钟，吸弃上清液。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。
4. 加入 15µl 蛋白酶 K 和 200µl 消化液 ATL 至样品中，吸打混匀几次。56℃ 温育 20 分钟。冰上放置 10 分钟，于 13,000~15,000 x g 离心 10 分钟。
19. RNA 提取：转移 150µl 上清液至新的离心管中，85℃ 温育 20 分钟，然后加入 20µl 磁珠液 MPN、150µl Buffer BST3 和 300µl 异丙醇至样品中，涡旋 10 秒，室温放置 5 分钟，其间颠倒混匀次数。转移至磁力架上吸附 3 分钟，吸弃溶液，按第 13-18 进行 RNA 提取。
5. DNA 提取：加入 15µl 蛋白酶 K 和 150µl 消化液 ATL 至沉淀（第 4 步），涡旋混匀，56℃ 温育 60 分钟，90℃ 温育 60 分钟。转移 200µl 至新的离心管中，按第二步的第 6-11 进行 DNA 提取。

### 【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