

【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 DNA 提取试剂盒

【包装规格】

200 人份 (货号 IVD3104, 版本 MPN)

【预期用途】

本产品适用于从 FFPE 石蜡切片和其它临床样本（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	IVD3104-50, 测试	IVD3104	主要成分
磁珠液 MPN	1.2 ml	6 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 ₂
脱蜡液 DPS	50 ml	150 ml	烷烃混和物
消化液 ATL	15 ml	60 ml	Tris/EDTA/SDS
结合液 BST3	25 ml	100 ml	NaAc/TritionX100/异硫氰酸胍
结合液 ALB	25 ml	100 ml	Tris/异硫氰酸胍
洗涤液 BW1 *	44 ml	110 ml	盐酸胍
洗脱液 EB	15 ml	60 ml	10mm Tris,pH8.5

【储存条件及有效期】

本产品室温贮存时，有效期 18 个月。

【准备工作】

- 溶解蛋白酶 K: 加入 1.2ml/4.5ml 蛋白酶溶解液至瓶子中，颠倒数次后保存于-20~8℃。
- 70~75%乙醇。
- 使用前洗涤液 BW1 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. 组织切片(标准方案)

- 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 1~5 片切片，并转移至 1.5ml 离心管中。加入 600 μ l 脱蜡液 DPS 至样品中，56℃ 水浴 6 钟，立即涡旋 15 秒让石蜡充分溶解。
- 13,000 x g 离心 1~3 分钟让组织块沉淀到管底。
若石蜡较多时，这一步最好把脱蜡液吸弃，以提高 DNA 产量，再按第 3 步进行操作。
- 加入 200 μ l 消化液 ATL 和 20 μ l 蛋白酶 K 至样品中，吸打 2-3 次让样品重悬。
 - 若第 2 步没有去除脱蜡液时，加入消化液 ATL 和蛋白酶 K 时，不要高速涡旋，以防止 SDS、蛋白酶 K 与脱蜡液形成乳化层，影响消化效果。加入消化液 ATL 后，消化液 ATL 会沉到下层，加入蛋白酶 K 时，要加入下层消化液 ATL 中，并轻轻在下层消化液中吸打（不超过 200 μ l 移液量）让组织块重悬。若第 2 步吸弃了脱蜡液，消化液 ATL 和蛋白酶 K，不需要分步加入。
- 56℃ 温育 60~120 分钟或过夜消化，90℃ 温育 60 分钟。13,000 x g 离心 1 分钟，转移下层消化液并按第二部分进行操作。
 - 当样品过夜消化时，可以省略 90℃ 温育 60 分钟。若第 2 步没有吸弃脱蜡液时，离心后上层是脱蜡液，下层为消化液，吸取下层溶液。中间层过多，增加离心时间或离心速度，充分破乳后再吸取下层溶液（产量更高）。

B. 组织切片(快速方案)

- 用手术刀去除多余石蜡，切取数个(<8 片)切片并转移至 1.5~2.0ml 离心管中。13,000 x g 离心 1 分钟让组织块沉淀到管底。
- 加入 250 μ l 消化液 ATL 和 20 μ l 蛋白酶 K，65℃ 轻轻振荡温育 90 分钟，90℃ 温育 60 分钟。
- 立即于 13,000 x g 离心 3 分钟，用移液枪小心穿过石蜡层，按第二部分进行操作，转移 200 μ l 消化液至离心管中。

第二部分：手工纯化操作

- 在 1.5ml 离心管中，加入 20 μ l 磁珠液 MPN，然后再加入 400 μ l 结合液 BST3 或结合液 ALB。
使用结合液 BST3，可以有效去除 RNA 污染和未消化充分的细胞碎片，减少毛细管的堵孔现象。使用结合液 ALB 时，可以提取得到总核酸，包括 RNA 和 DNA。
- 转移 200 μ l 消化液至装有磁珠液 MPN 和结合液的管子中，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 2 分钟。倒弃或吸弃溶液。
- 加入 500 μ l 洗涤液 BW1，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。

- 重复第3步一次。
- 加入 500µl 75%乙醇，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。
- 重复第5步一次。
- 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 6 分钟。
- 加入 30~100µl 洗脱液 EB，55℃ 振荡温育 10 分钟。
- 移至磁力架上吸附 5 分钟，把 DNA 转移至新的离心管中。

第二部分：32/48 通道核酸提取仪操作

- 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	400µl 结合液BST3或ALB	200µl消化液或上清液
第2/8排孔	500µl 洗涤液BW1	
第3/9排孔	500µl 洗涤液BW1	
第4/10排孔	500µl 70~75%乙醇，20µl 磁珠液 MPN	
第5/11排孔	500µl 70~75%乙醇	
第6/12排孔	50µl 洗脱液EB	

- 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。
- 约 30 分钟后，仪器结束。取出 96 孔板和磁力外套。
- 把 DNA 转移至 1.5ml 离心管中，把产物保存于-20~8℃。

第二部分：96 通道核酸提取仪操作

- 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	400µl 结合液BST3或ALB	200µl消化液或上清液
清洗板1	500µl 洗涤液BW1，并放入96孔磁力套	
清洗板2	500µl 洗涤液BW1	
清洗板3	750µl 70~75%乙醇，20µl 磁珠液 MPN	
洗脱板	50~100µl 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 30 分钟后，仪器结束。

- 取出 96 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。

【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

附：MagMix 32/48 运作程序

序号	名称	孔位	容积	混合时间		等待		磁吸时间			吸磁	加热	
				时间	速度	时间	位置	升降	液面	底部		板位	温度
1	吸磁	4	500	0.5min	8	0	0	50s	0	0	自动	/	
2	结合	1	850	6 min	8	0	0	90s	30	30	自动	1	
3	清洗1	2	500	3 min	9	0	0	90s	0	0	自动	/	/
4	清洗2	3	500	2 min	9	0	0	90s	0	0	自动	/	/
5	清洗3	4	500	1 min	9	0	0	60s	0	0	自动	/	/
6	清洗4	5	500	1 min	9	0	0	60s	0	0	自动	/	/
7	晾干	5	500	0	0	3	晾干	0	0	0	自动	/	/
8	洗脱	6	100	8 min	10	0	0	90s	0	50	自动	6	55
9	弃磁	4	500	0.5min	9	0	0	0	0	0	自动	/	/