

【产品名称】

通用名称：核酸提取或纯化试剂

商用名称：磁珠法粪便 DNA 试剂盒

【包装规格】

200 人份 (货号 IVD3105)

【预期用途】

本产品适用于从粪便、拭子、匀浆液、细胞悬液等样品中提取高纯度的总核酸 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 的粒子洗涤去除蛋白质和杂质，最后 DNA 被洗脱液 AE 或灭菌水洗脱。

【主要组成成份】

货号	IVD3105-50,测试	IVD3105	主要成分
磁珠液 MP	1.6 ml	7.0 ml	磁珠液
2ml 研磨管 B	50 个	200 个	研磨珠
消化液 STL	40 ml	150 ml	Tris/EDTA
沉淀剂 SL	4 ml	15 ml	醋酸铵
去蛋白液 PCI	20 ml	80 ml	酚氯仿
结合液 GDP	60 ml	250 ml	异硫氰酸胍
洗涤液 BW1 *	22 ml	110 ml	盐酸胍
洗脱液 AE	10 ml	60 ml	10mm Tris,pH9.0, 0.5mm EDTA

【储存条件及有效期】

本试剂盒在室温贮存时，有效期 18 个月。

【准备工作】

- 使用前，洗涤液 BW1 按标签所示，加入适量的异丙醇/无水乙醇进行稀释。

第一部分：样品的裂解和消化

- 在 2ml 匀浆管 B，加入 50~200mg 粪便样品，200 μ l 粪便悬液，30-100mg 碎组织块，200 μ l 含保存液的粪便悬液、200 μ l 血液、200 μ l 组织匀浆液等待测样品。

人类粪便样本可能含有未消化的食物物质（例如，作物或水果壳，未消化的种子），这些颗粒最好不要转移。动物粪便样本，降低样本量可能会得到更好的结果。非常干燥的粪便样品，如兔或小鼠粪便，可能会吸收裂解液，导致离心后样品体积不足。在这些情况下，建议减少粪便物质质量，如 50mg。对于困难的粪便样本，如脂质、多糖或富含蛋白质的粪便，建议使用 60-100mg 开始提取，减少起始物质也可能提高裂解效率和 DNA 的纯度。

处理液体粪便样品，建议取 0.2ml 进行操作，若样品中水份较多，可以取转移的样品离心后去除多余的水份，残渣和残液总体积不要超过 0.2ml。

处理保存液处理的粪便样品，建议取 0.2~0.4ml 进行提取。

- 加入 600 μ l Buffer STL, 60 μ l Buffer SL 和 300 μ l Buffer PCI，盖紧盖子。转移至涡旋仪上高速涡旋 10 分钟或使用珠磨仪进行高速珠磨 30-60 秒。
 - 涡旋仪：推荐使用美基涡旋仪 MagMix A，带 2ml 离心管的夹具，可一次高效处理 10~20 个样品。
 - Powerlyzer 珠磨仪：建议 2000rpm 珠磨 30 秒，暂停 30 秒，再 2000rpm 珠磨 30 秒。
 - FastPrep24 珠磨仪：建议 5m/s，珠磨 30 秒，暂停 30 秒，再 5m/s 珠磨 30 秒。
 - Tissue Lysis II 珠磨仪：建议 25Hz 珠磨 5 分钟，重新调整位置后再 25Hz 珠磨 5 分钟。
 - 只需要提取人源 DNA 时，建议涡旋 1-2 分钟直至样品充分散，缩短时间减少细菌 DNA 的释放。
- 室温下，14,000 x g 离心 10 分钟，得上清液备用。

第二部分：手工提取流程

- 转移 400 μ l 上清液至新的离心管中，加入 30 μ l 磁珠液 MP 和 500 μ l 结合液 GDP。涡旋混匀 15 秒，室温静置 6 分钟，其间涡旋混匀几次。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 GDP，涡旋 15 秒。转移至磁力架上吸附 1 分钟，吸弃溶液。
- 加入 500 μ l 洗涤液 BW1，涡旋 15 秒。转移至磁力架上吸附 1 分钟，吸弃溶液。

- 加入 500µl 75%乙醇，涡旋 15 秒。转移至磁力架上吸附 1 分钟，吸弃溶液。
- 加入 500µl 75%乙醇，涡旋 15 秒。转移至磁力架上吸附 1 分钟，吸弃溶液。
- 短暂离心，吸尽残液。空气干燥 10 分钟。
- 加入 50~100µl 洗脱液 AE，涡旋打散磁珠。55℃ 振荡温育 10 分钟。若无振荡温匀，其间涡旋混匀 2~3 次加速 DNA 的溶解。
- 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

- 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	500µl 结合液GDP	400µl上清液
第2/8排孔	500µl 洗涤液GDP	
第3/9排孔	500µl 洗涤液BW1	
第4/10排孔	500µl 70~75%乙醇, 30µl 磁珠液 MP	
第5/11排孔	500µl 70~75%乙醇	
第6/12排孔	50~100µl 洗脱液AE	

- 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℃。

第三部分：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	500µl 结合液GDP,	400µl上清液
清洗板1	500µl 洗涤液GDP, 并放入96孔磁力套	
清洗板2	500µl 洗涤液BW1	
清洗板3	500µl 75%乙醇, 30µl 磁珠液 MP	
清洗板4	500µl 75%乙醇	
洗脱板	50~100µl 洗脱液AE	

- 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	950	6 min	8	0	0	90s	30	30	自动	1	
3	清洗1	2	500	2 min	9	0	0	90s	0	0	自动	/	/
4	清洗2	3	500	1 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	干燥	5	500	0	0	6	晾干	0	0	0	自动	/	/
8	洗脱	6	100	8 min	10	0	0	60s	0	40	自动	6	55
9	弃磁	4	500	0.5min	9	0	0	0	0	0	自动	/	/