

【产品名称】

通用名称: 核酸提取或纯化试剂

商用名称: 柱法 FFPE RNA/DNA 共提试剂盒

【包装规格】

50 人份 (货号 IVD5116), 版本: B 型

【预期用途】

本产品适用于从 FFPE 样本中同时提取 RNA 和 DNA, 提取产物可用于临床体外检测使用。

【检验原理】

本产品基于硅胶柱纯化方式。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, DNA 或 RNA 经调节后, 会吸附在柱子的滤膜, 而蛋白质等杂质则不被吸附而去除。吸附了核酸的滤膜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/RNA 被洗脱。

【主要组成成份】

货号	IVD5116-20	IVD5116	主要成分
DNA 吸滤柱 I (红色)	20	50	纯化柱
RNA 吸附柱 I (红色)	20	50	纯化柱
收集管	50	100	塑料管
蛋白酶 K	24 mg	50 mg	重组蛋白酶 K
蛋白酶溶解液	1.8 ml	5 ml	Tris/CaCl ₂ /甘油
脱蜡液 DPS	30 ml	60 ml	烷烃混和物
消化液 FRL	10 ml	15 ml	Tris/EDTA/SDS
消化液 ATL	10 ml	15 ml	Tris/EDTA/SDS
变性液 FBD	10 ml	15 ml	异硫氰酸胍
变性液 AL	10 ml	15 ml	盐酸胍/NaAc/Tween-20
洗涤液 VHB	13 ml	26 ml	异硫氰酸胍
洗涤液 RW2	10 ml	25 ml	Tris/NaCl
洗脱液 NFW	10 ml	10 ml	DEPC 处理水
洗脱液 EB	10 ml	10 ml	10mM Tris,pH8.5

【储存条件及有效期】

本产品室温下运输, 收到产品后, 把蛋白酶 K 保存于 -20-8°C。其它组份保存于室温, 有效期 18 个月。

【准备工作】

- 溶解蛋白酶 K: 加入 1.2ml/2.5ml 蛋白酶溶解液至瓶子中, 溶解后保存于 -20~8°C。
- 使用前, 洗涤液 VHB/洗涤液 RW2 按标签所示, 加入适量的无水乙醇进行稀释。

第一部分: 样品裂解和消化
A. 组织切片(简易方案)

- 用手术刀去除多余石蜡, 切取数个(<3 片)切片并转移至 1.5~2.0ml 离心管中。
- 加入 900µl 脱蜡液 DPS, 颠倒数次让切片完全浸泡于脱蜡液 DPS 中, 56°C 水浴 5 分钟, 立即涡旋混匀 15 秒让石蜡充分溶解。
- 加入 200µl 消化液 FRL 至样品中, 涡旋混匀 5 秒, 13,000 x g 离心 1 分钟。
- 加入 20µl 蛋白酶 K 至下层溶液, 吸打 2~3 次, 56°C 温育 15~20 分钟。
- 转移下层消化液到新的离心管中, 冰上放置 3 分钟。
- >14,000 x g 离心 3 分钟, 转移上清液至新的 1.5ml 离心管, 上清液于 80°C 水浴 20~30 分钟, 按第二步的 RNA 流程进行操作。
- 保留沉淀部分, 加入 200µl 消化液 ATL 和 20µl 蛋白酶 K, 涡旋混匀。56°C 温育 60 分钟, 90°C 水浴 60 分钟, 按第二步的 DNA 流程进行操作。

B. 组织切片(标准方案)

- 用手术刀去除多余石蜡, 切取数个(<3 片)切片并转移至 1.5~2.0ml 离心管中。
- 加入 900µl 脱蜡液 DPS, 颠倒混匀让切片完全浸泡于脱蜡液 DPS 中, 56°C 水浴 5 分钟, 立即涡旋混匀 15~20 秒让石蜡充分溶解。
- 13,000 x g 离心 3 分钟, 小心吸弃脱蜡液, 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。
- 加入 200µl 消化液 FRL 和 20µl 蛋白酶 K, 涡旋 5 秒, 56°C 温育 15~20 分钟。
- 冰上放置 3 分钟。>14,000 x g 离心 3 分钟。
- 转移上清至新的 1.5ml 离心管, 上清液于 80°C 水浴 15~30 分钟, 按第二步的 RNA 流程进行操作。

- 保留沉淀部分，加入 200 μ l 消化液 ATL 和 20 μ l 蛋白酶 K，涡旋混匀。56 $^{\circ}$ C 温育 60 分钟，90 $^{\circ}$ C 水浴 60 分钟，按第二步的 DNA 流程进行操作。

第二部分: 过柱纯化

RNA 抽提

- 取第 6 步获得的上清液，加入 200 μ l 变性液 FBD 和 600 μ l 无水乙醇，涡旋混匀 10 秒。
- 把 RNA 吸附柱装在 2ml 收集管中。转移一半体积的混合液至柱子中。10,000 \times g 离心 30-60 秒。
- 倒弃滤液，把柱子装在收集管中。转移剩余混合液至柱子中。10,000 \times g 离心 30-60 秒。
- 倒弃滤液，把柱子装在收集管中。加入 500 μ l 洗涤液 VHB 至柱子，10,000 \times g 离心 30-60 秒。
- 倒弃滤液，把柱子装在收集管中。加入 500 μ l 洗涤液 RW2 至柱子，10,000 \times g 离心 30-60 秒。
- 倒弃滤液，把柱子装在收集管中。加入 500 μ l 洗涤液 RW2 至柱子，10,000 \times g 离心 30-60 秒。
- 倒弃流出液，把柱子装在收集管中。13,000 \times g 离心空柱 3 分钟，以甩干柱子的基质。
- 将柱子转移至新的 1.5ml 离心管。加入 15-50 μ l 洗脱液 NFW 至柱子的膜中央。静置 1 分钟。13,000 \times g 离心 1 分钟。
- 弃去柱子，把 RNA 保存于 -80 $^{\circ}$ C。

DNA 抽提

- 取第 7 步获得的消化液，加入 200 μ l 变性液 AL 至样品中，涡旋混匀 10 秒。
- 加入 200 μ l 无水乙醇至样品中。涡旋混匀 10 秒。
- 把 DNA 吸附柱装在 2ml 收集管中。转移混合液至柱子中，10,000 \times g 离心 60 秒。
- 倒弃滤液，把柱子装回收集管中，加入 500 μ l 洗涤液 VHB，10,000 \times g 离心 30-60 秒。
- 倒弃滤液，把柱子装回收集管中，加入 500 μ l 洗涤液 RW2，10,000 \times g 离心 30-60 秒。
- 倒弃滤液，把柱子装回收集管中，加入 500 μ l 洗涤液 RW2，10,000 \times g 离心 30-60 秒。
- 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。13,000 \times g 离心 3 分钟，以甩干柱子的基质。
- 将柱子转移至新的 1.5ml 离心管，加入 15-30 μ l 预热至 56 $^{\circ}$ C 洗脱液 EB 至柱子的膜中央。放置 3 分钟，13,000 \times g 离心 1 分钟。
- 丢弃 DNA 结合柱，把 DNA 保存于 2-8 $^{\circ}$ C，长期保存需保存于 -20 $^{\circ}$ C 或 -80 $^{\circ}$ C。

【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。
- 核酸纯度：按说明书提取 2.5mg 经福尔马林固定的肝脏，检测产物时，OD_{260/280} 值在 1.7-2.0，A_{260/230} 在 1.2-1.8，且 CV 值小于 10%。
- 核酸产量：按说明书提取 2.5mg 经福尔马林固定的肝脏，检测 DNA 产物时，核酸产量在 2~5 μ g，检测 RNA 产物时，核酸产量在 2~5 μ g，且 CV 值小于 15%。

【注意事项】

- 本品仅用于体外诊断。
- 实验前请仔细阅读本说明书。
- 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

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