

【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 作用下化得到 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	70 mg	220 mg	重组蛋白酶
蛋白酶溶解液	5 ml	15 ml	Tris/CaCl ₂ /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 3.5ml/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 μ l	50 μ l	75 μ l	100 μ l
磁珠液 MPF	75 μ l	150 μ l	200 μ l	300 μ l
Buffer SDS	50 μ l	100 μ l	150 μ l	200 μ l
Buffer PS	0.25 ml	0.5 ml	0.75ml	1 ml
结合液 MLK	2.1 ml	4.2 ml	6.3 ml	8.4 ml
洗脱体积	35-50 μ l	50~60 μ l	70~100 μ 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 μ 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 μ l	125 μ l	150 μ l	175 μ l	200 μ l
磁珠液 MPF	200 μ l	200 μ l	200 μ l		300 μ l
Buffer SDS	200 μ l	250 μ l	300 μ l	350 μ l	400 μ 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 μ 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 μ 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 μ 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 μ l	50 μ l	75 μ l	100 μ l	125 μ l	150 μ l
磁珠液 MPF	75 μ l	100 μ l	150 μ l	150 μ l	200 μ l	
Buffer SDS	50 μ l	100 μ l	150 μ l	200 μ l	250 μ l	300 μ 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 μ l	60~70 μ l	75~90 μ 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 μ l 洗涤液 MAW1、70~200 μ l 磁珠液 MPF、24 孔磁力套
清洗板2	3000 μ l 洗涤液 MW2
清洗板3	3000 μ l 洗涤液 MW2
清洗板4	500 μ l 无水乙醇
洗脱板	75~90 μ 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