

### 【产品名称】

通用名称：核酸提取或纯化试剂商用名称：磁珠法通用 RNA 提取试剂盒

### 【包装规格】

200 人份 (货号 IVD3020)

### 【预期用途】

本产品适用于从各种临床样本(血液、组织、细胞、骨髓等)中提取高纯度的 RNA，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。样品在消化液作用下裂解，DNA/RNA 释放到消化液中，加入磁珠和结合液后，DNA/RNA 会吸附在磁珠表面，而蛋白质等杂质则不被吸附而去除。吸附了 DNA/RNA 的粒子经洗涤液洗涤去除蛋白质和杂质，再经过 DNase I 消化去除 DNA，重结合后，经乙醇液洗涤去除盐分；最后 RNA 被洗脱液 RFW 洗脱。

### 【主要组成成份】

货号	IVD3020-50,测试	IVD3020	主要成分
MagPure RNA Particles	2 ml	7 ml	磁珠液
Proteinase K	24 mg	60 mg	重组蛋白酶 K
蛋白酶溶解液	1.8 ml	5 ml	甘油/Tris/CaCl <sub>2</sub>
DNase I	600 μl	4 x 600 μl	牛胰脱氧核糖核酸酶
DNase Buffer	30 ml	70 ml	Tris/MgCl <sub>2</sub> /CaCl <sub>2</sub>
消化液 RTL	30 ml	140 ml	异硫氰酸胍
结合液 MCB	30 ml	75 ml	异硫氰酸胍/表面活性剂
洗涤液 MW1	44 ml	110 ml	异硫氰酸胍
洗涤液 MW2	20 ml	50 ml	Tris/NaCl
洗脱液 RFW	15 ml	60 ml	DEPC 处理水

### 第一部分：样品的裂解和消化

#### 【储存条件及有效期】

本产品在除 DNase I 外，其它组份室温运输和保存，有效期 18 个月。DNase I 于冰盒运输，收到产品后放置于 2-8°C，长期保存(>3 个月)放置于-20°C。

#### 【准备工作】

- 溶解 Proteinase K: 加入 1.2ml/3.0ml 蛋白酶溶解液至瓶子中，颠倒数次后保存于-20~8°C。
  - 使用前，按标签所示，洗涤液 MW1/MW2/结合液 MCB 加入适量的无水乙醇/异丙醇进行稀释。
  - (可选) 使用前，每 1ml 的消化液 RTL 加入 20μl 1M DTT(自备)，以提高消化液的变性能力。
1. 根据样品类型进行匀浆和裂解。
    - 组织：称取不超过 20mg 组织至 1.5ml 离心管中，加入 550μl 消化液 RTL 进行匀浆。室温下，14,000 x g 离心 3 分钟，转移 500μl 上清液至新的离心管中。
    - 悬浮细胞(不超过 5x10<sup>6</sup>)：取适量培养液至离心管中，500xg 离心 10 分钟收集细胞，彻底去除培养基。涡旋或弹打松散细胞，加入 500μl 消化液 RTL，用移液枪吸打数次，消化液比较粘稠时，用 1ml 注射器吸打 3-5 次打断基因组，降低粘度。
    - 贴壁细胞：彻底吸去培养基，加入 550μl 消化液 RTL，用移液枪吸打数次让细胞脱落，转移消化液至 1.5ml 离心管中。消化液比较粘稠时，用 1ml 注射器吸打 3-5 次打断基因组，降低粘度。
    - 全血：取 0.5-1ml 新鲜血液，用淋巴细胞分离液或红细胞消化液分离出淋巴细胞，吸弃溶液后，余~20μl 残液，涡旋打散淋巴细胞，加入 500μl 消化液 RTL，用移液枪反复吸打数次，消化液比较粘稠时，用 1ml 注射器吸打 3-5 次打断基因组，降低粘度。
    - 骨髓：取 0.05~0.1ml 骨髓，加入 500μl 消化液 RTL，用移液枪反复吸打数次，若消化液粘稠，再用 1ml 注射器吸打 3-5 次打断基因组，降低粘度。
    - 穿刺液：取不超过 50μl 体液或穿刺液至 1.5ml 离心管中，加入 400μl 消化液 RTL 至样品中，用移液枪吸打数次。
    - Paxigene Tube/RNAsafer LS Reagent 保存的血液：在 2ml 离心管中，加入~2ml 含血液的保存液，于 12,000 x g 离心 3 分钟，弃上清；加入 1ml DEPC 处理水，涡旋 15 秒，于

12,000 x g 离心 3 分钟，弃上清；短暂离心吸尽残液。加入 300µl 消化液 RTL 至样品中，涡旋打散沉淀，加入

150µl 洗脱液 RFW 和 10µl Proteinase K，55 度振荡温育 15 分钟。

- Trizol/MagZol Reagent 前处理：按 Trizol/Magzol Reagent 的说明书，对样品进行匀浆裂解，加入氯仿抽提，离心后，取 500µl 上清液，按第二步部分进行操作。

### 第二部分：手工纯化操作

2. 在 1.5ml 离心管中，先加入 450µl 结合液 MCB 和 30µl 磁珠液 MRP。
3. 转移第一步准备的消化液或上清液(400~500µl)至含磁珠的离心管中，颠倒混匀 15-30 次，室温静置 10 分钟，其间颠倒混匀数次。转移至磁力架上吸附 2 分钟，吸弃溶液。
4. 加入 600µl 洗涤液 MW1，涡旋 10 秒。转移至磁力架上吸附 1 分钟。吸弃溶液。
5. 短暂离心，转移至磁力架上，吸尽残液。空气干燥 5 分钟。
6. 加入 300µl DNase Mixture (280µl DNase Buffer +10µl DNase I+10µl Proteinase K，可预混) 至样品中，轻轻振荡重悬磁珠。室温振荡 10~15 分钟消化 DNA。
7. 加入 450µl 结合液 MCB 至样品中，涡旋混匀 10 秒。室温静置 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。
8. 加入 500µl 洗涤液 MW2，涡旋 10 秒。转移至磁力架上吸附 1 分钟。吸弃溶液。
9. 加入 500µl 洗涤液 MW2，涡旋 10 秒。转移至磁力架上吸附 1 分钟。吸弃溶液。
10. 短暂离心，吸尽残液。
11. 室温干燥 10~15 分钟。
12. 加入 30~100µl 洗脱液 RFW 至样品中，涡旋打散磁珠。室温静置 3 分钟。
13. 转移至磁力架上吸附 2 分钟，把 RNA 转移至新的离心管中。

### 第二部分：32/48 通道核酸提取仪操作

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	450µl 结合液 MCB 30µl 磁珠液 MRP	第一部分的消化液或上清液 (400-500µl)
第 2/8 排孔	600µl 洗涤液 MW1	
第 3/9 排孔	280µl DNase Buffer +10µl DNase I+10µl Proteinase K	

第 4/10 排孔	600µl 洗涤液 MW1
第 5/11 排孔	800µl 洗涤液 MW2
第 6/12 排孔	50~100µl 洗脱液 RFW

2. 打开机器，96 孔板放到仪器中，把磁力外套插到仪器中，启动对应程序。
3. 约 25 分钟仪器暂停，取出 96 孔板。加入 500µl 结合液 MCB 至第 3/9 排孔中，继续运行程序。
4. 约 25 分钟后结束。取出 96 孔板和磁力外套。
5. 把 RNA 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

1. 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	450µl 结合液 MCB 30µl 磁珠液 MP	第一部分的消化液或上清液 (400-500µl)
清洗板 1	500µl 洗涤液 MW1，并放入 96 孔磁力套	
DNase	280µl DNase Buffer +10µl DNase I+10µl Proteinase K	
清洗板 2	600µl 洗涤液 MW1	
清洗板 3	850µl 洗涤液 MW2	
洗脱板	50~100µl 洗脱液 RFW	

2. 打开机器，启动对应程序，按提示把 96 孔板放到仪器中。
3. 约 25 分钟仪器暂停，取出 96 孔板。
4. 加入 450µl 结合液 MCB 至 DNase 板中，继续执行。
6. 约 25 分钟后结束。取出 96 孔板和磁力外套。
7. 取出 96 孔板。把产物保存于-20℃。

### 【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	结合	1	900	8 min	8	0	0	90s	15	15	自动	/	/
2	清洗 1	2	600	3 min	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
3	干燥	2	500	0	0	3	晾干	0	0	0	自动	/	/
4	DNase	3	300	10 min	0	0	0	0	0	0	自动	/	/
5	暂停	3	300	0	0	暂停		0	0	0	自动	/	/
6	重结合	3	800	8 min	0	0	0	60s	15	15	自动	/	/
7	清洗 3	4	600	1 min	9	0	0	60s	0	0	自动	/	/
8	清洗 4	5	800	1 min	9	0	0	60s	0	0	自动	/	/
9	干燥	5	500	0	0	5	晾干	0	0	0	自动	/	/
10	洗脱	6	100	5 min	9	0	0	60s	0	40	自动	6	55
9	弃磁	5	500	0.5min	9	0	0	0	0	0	自动	/	/