

## 【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 RNA DNA 共提取试剂盒

## 【包装规格】

200 人份(货号 IVD3026), 版本: MB/BD

## 【预期用途】

本产品适用于从 FFPE 石蜡切片和细胞、微量组织中提取高纯度的 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 作用下分步裂解消化得到 DNA 和 RNA 消化液, 加入磁性粒子和结合液, DNA 或 RNA 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 RNA 被洗脱液 NFW 洗脱。

## 【主要组成成份】

货号	MD3026-50, 测试	MD3026	主要成分
磁珠液 MB	2.5 ml	9 ml	磁珠液
蛋白酶 K	50 mg	200 mg	重组蛋白酶 K
蛋白酶溶解液	1.8 ml	15 ml	甘油/Tris/CaCl <sub>2</sub>
脱蜡液 DPS	30 ml	150 ml	烷烃混合物
消化液 FRL	20 ml	100 ml	Tris/EDTA/SDS
消化液 ATL	20 ml	100 ml	Tris/EDTA/SDS
变性液 AL	20 ml	100 ml	盐酸胍/Tween-20
结合液 BD*	10 ml	50 ml	NaAC/Tween-20/盐酸胍
洗涤液 BXW1*	26 ml	110 ml	盐酸胍
洗涤液 MW2*	20 ml	2 x 50 ml	Tris/ NaCl
洗脱液 NFW	15 ml	60 ml	DEPC 处理水

## 【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 Proteinase K: 加入 2.5 ml/10ml 蛋白酶溶解液至瓶子中, 颠倒数次后保存于-20~-8℃。
- 使用前, 结合液 BD/洗涤液 BXW1/MW2 按标签所示, 加入适量的无水乙醇进行稀释。
- 若需彻底去除 RNA 组份中的 DNA 污染, 请另外订购 DNase Set (R4911-01)

## 第一部分: 样品的裂解和消化

1. 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 1~6 片 5~20 $\mu$ m 的切片, 并转移至 1.5ml 离心管中。
2. 加入 600 $\mu$ l 脱蜡液 DPS 至样品中, 涡旋 5 秒, 让切片完全浸泡于脱蜡液 DPS 中。56 $^{\circ}$ C 水浴 6 分钟, 立即涡旋混匀 15 秒让石蜡充分溶解。
3. 14,000 x g 离心 3 分钟, 吸弃上清液。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 步一次。
4. 加入 15 $\mu$ l 蛋白酶 K 和 200 $\mu$ l 消化液 FRL 至样品中, 吸打混匀几次。
5. 56 $^{\circ}$ C 温育 20 分钟。冰上放置 10 分钟。
6. 于 13,000~15,000 x g 离心 10 分钟。
7. 小心转移 150 $\mu$ l 上清液至新的离心管中, 85 $^{\circ}$ C 温育 20 分钟, 按第 8-15 进行 RNA 提取, 保留沉淀和残渣, 按第 16-224 步进行 DNA 提取。

### ● RNA 提取

8. 在上清液(第 7 步)中, 加入 150 $\mu$ l 变性液 AL, 涡旋混匀 10 秒;
9. 加入 20 $\mu$ l 磁珠液 MB 和 300 $\mu$ l 异丙醇, 颠倒混匀 15~30 次, 室温静置 10 分钟, 其间颠倒混匀数次。
10. 转移至磁力架上吸附~3 分钟, 吸弃上清液。
11. 加入 400 $\mu$ l 洗涤液 BXW1, 涡旋 15 秒。转移至磁力架上吸附~1 分钟。倒弃或吸弃溶液。
12. 加入 400 $\mu$ l 洗涤液 MW2, 涡旋 10 秒。转移至磁力架上吸附~1 分钟。倒弃或吸弃溶液。
13. 重复第 12 步一次。
14. 短暂离心, 吸弃所有溶液。打开管盖, 空气干燥 3 分钟。加入 50~100 $\mu$ l 洗脱液 NFW, 涡旋重悬磁珠, 室温放置~5 分钟。
15. 转移至磁力架上吸附 3 分钟, 把 RNA 转移至新的离心管中, 待用或保存于-20 $^{\circ}$ C。

### ● DNA 提取

16. 加入 20 $\mu$ l Proteinase K 和 150 $\mu$ l Buffer ATL 至沉淀中(第 7 步), 混匀, 56 $^{\circ}$ C 温育 60 分钟, 90 $^{\circ}$ C 温育 60 分钟。

17. 短暂离心收集液滴，然后加入 150µl 变性液 AL，涡旋混匀 10 秒。
18. 加入 20µl 磁珠液 MB 和 400µl Buffer BD，颠倒混匀 15~30 次，室温静置 10 分钟，其间颠倒混匀数次。
19. 转移至磁力架上吸附~3 分钟，吸弃上清液。
20. 加入 400µl 洗涤液 BXW1，涡旋 15 秒。转移至磁力架上吸附~1 分钟。倒弃或吸弃溶液。
21. 加入 400µl 洗涤液 MW2，涡旋 10 秒。转移至磁力架上吸附~1 分钟。倒弃或吸弃溶液。
22. 重复第 19 步一次。
23. 短暂离心，吸弃所有溶液。打开管盖，空气干燥 3 分钟。
24. 加入 50~100µl 洗脱液 NFW，涡旋重悬磁珠，55 度振荡温育~5 分钟。转移至磁力架上吸附 3 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

1. 按下表把洗涤液，结合液等加到深孔板对应的孔中。
2. 取第 7 步的上清液 (RNA) 或第 16 步的消化液 (DNA)，加入 150µl 变性液 AL，涡旋混匀，然后把全部混合液转移至第 1/7 排孔中。

孔位	预装试剂	使用前加入
第 1/7 排孔	20µl 磁珠液 MB 400µl 结合液 BD	150~200µl 消化液
第 2/8 排孔	400µl 洗涤液 BXW1	
第 3/9 排孔	400µl 洗涤液 MW2	
第 4/10 排孔	400µl 洗涤液 MW2	
第 5/11 排孔	200µl 纯净水	
第 6/12 排孔	50~80µl 洗脱液 NFW	

3. 打开机器，把磁力外套插到仪器中，并把 96 孔板放到仪器中。启动对应程序。
4. 约 30 分钟后，结束。取出 96 孔板和磁力外套。
5. 第 6/12 排孔：把 DNA/RNA 组份转移至 1.5ml 离心管中，把产物保存于-20C。

## 【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	结合	1	700	6 min	8	0	0	90s	30	30	自动	1	
2	清洗1	2	400	1 min	9	0	0	60s	30	30	自动	/	/
3	清洗2	3	400	1 min	9	0	0	60s	0	0	自动	/	/
4	清洗3	4	400	1 min	9	0	0	60s	0	0	自动	/	/
5	干燥	5	500	0	0	1	晾干	0	0	0	自动	/	/
6	洗脱	6	100	7 min	9	0	0	60s	0	40	自动	6	50
7	弃磁	5	500	0.5min	9	0	0	0	0	0	自动	/	/