

### 【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 DNA 提取试剂盒

### 【包装规格】

96 人份 (D6323-02B), 48 人份 (D6323-01, 测试), 24 人份 (D6323-00, 测试) 版本: IVD

### 【预期用途】

本产品适用于从石蜡包埋组织、全血和冻存组织块样品中提取高纯度的 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 或灭菌水洗脱。

### 【主要组成成份】

货号	D6323-00B	D6323-01B	D6323-02B	主要成分
磁珠液 MB	0.6 ml	1.1 ml	2.5 ml	磁珠液
脱蜡液 DPS	40 ml	60 ml	90 ml	烷烃混合物
RNase A	5 mg	10 mg	20 mg	核糖核酸酶
蛋白酶 K	12 mg	24 mg	48 mg	重组蛋白酶 K
蛋白酶溶解液	1.8 ml	5 ml	10 ml	甘油/Tris/CaCl <sub>2</sub>
消化液 ATL	10 ml	15 ml	30 ml	Tris/EDTA/SDS
变性液 AL	10 ml	15 ml	30 ml	NaAc/Tween-20/盐酸胍
结合液 BD*	6 ml	6 ml	15 ml	高氯酸钠
洗涤液 BXW1*	6.6 ml	13 ml	44 ml	盐酸胍
洗涤液 GW2*	10 ml	20 ml	50 ml	Tris/NaCl
洗脱液 EB	10 ml	15 ml	30 ml	10mm Tris,pH8.5

### 【储存条件及有效期】

本产品室温贮存和运输, 有效期 18 个月。长期保存时, 把磁珠液 MB 和蛋白酶 K, RNase A 保存于 2-8 度。

### 【准备工作】

- 溶解蛋白酶 K: 加入 2.4ml 蛋白酶溶解液至瓶子中, 颠倒使之溶解, 保存于-20~8℃。
- 溶解 RNase A: 加入 1.4ml 蛋白酶溶解液至瓶子中, 颠倒使之溶解, 保存于-20~8℃。
- 结合液 BD/洗涤液 BXW1/洗涤液 GW2 按标签所示, 加入适量的无水乙醇进行稀释。

### 第一部分: 手工操作流程

1. 用手术剪刀和镊子去除石蜡包埋组织中的多余的石蜡。用切片机制出 1~3 片切片, 并转移至 1.5ml 离心管中。
2. 加入 600~800 $\mu$ l 脱蜡液 DPS 至样品中, 短暂离心让样品完全浸泡到脱蜡液中。56℃ 水浴 5 分钟, 立即涡旋 15~30 秒让石蜡充分溶解。
3. 13,000 x g 离心 1~3 分钟让组织块沉淀到管底。  
若石蜡较多时, 这一步最好把脱蜡液全部吸弃, 以提高回收率, 再按第 4 步进行操作。
4. 加入 20 $\mu$ l 蛋白酶 K 和 150 $\mu$ l 消化液 ATL, 吸打混匀几次。若组织完全沉淀在管壁, 用枪头轻轻挑动样品使之重悬。
  - 若第 3 步没有吸弃脱蜡液时, 加入消化液 ATL 和蛋白酶 K 时, 不要高速涡旋, 以防止 SDS、蛋白酶 K 与脱蜡液形成乳化层, 从而消化效果。
  - 处理新鲜或冻存组织样品时, 取不超过 10mg 组织块至 1.5ml 离心管中, 加入 20 $\mu$ l 蛋白酶 K 和 150 $\mu$ l 消化液 ATL, 56℃ 振荡温育 60~120 分钟或过夜直至样品完全消化。按第 6 步进行操作。
  - 处理全血、拭子浸泡液或其它液体样品时, 取 150 $\mu$ l 样品至 1.5ml 离心管中, 加入 150 $\mu$ l 变性液 AL 至样品中, 56℃ 振荡温育 15~30 分钟, 按第 8 步进行操作。
5. 56℃ 温育 60~120 分钟 (或过夜消化), 90℃ 温育 60 分钟。
6. 短暂离心收集管壁上的液滴, 转移消化液到新的离心管中, (可选) 加入 10 $\mu$ l RNase A 混匀, 室温放置 10-15 分钟。  
若样品不能完全消化或消化液不澄清, 于 13,000 x g 离心 1 分钟去除未消化的物质。若第 3 步没有吸弃脱蜡液时, 吸取下层溶液 (上层为 DPS 石蜡层)。中间层过多, 增加离心时间或离心速度, 充分破乳后再吸取下层溶液 (产量更高)。
7. 加入 150 $\mu$ l 变性液 AL 至样品中, 涡旋混匀 10 秒。
  - 低温下, 加入变性液 AL 时会产生沉淀物, 涡旋混匀后放置一会, 沉淀都会溶解。未完全溶解时, 55 度温育 3-5 分钟。

8. 加入 20µl 磁珠液 MB 和 300~400µl Buffer BD 至样品中，颠倒混匀 20~30 次。室温静置 5 分钟，其间颠倒混匀数次。
  - 处理石蜡样品时：调整 Buffer BD，可以选择性去除不同大小的 DNA 片段，以减少短片段 DNA 污染。300ul Buffer BD 可有效去除 500bp 以下的片段；400ul Buffer BD 可有效去除 250bp 以下的片段。用无水乙醇代替 Buffer BD 有利于提高 DNA 回收率和短片段 DNA 回收率，如加入 400µl 无水醇可以回收大于 100bp 的片段。
  - 处理新鲜或冻存的组织或全血样品时，由于没有短片段 DNA，直接加入 300µl 结合液 BD。
9. 转移至磁力架上吸附 3~5 分钟。倒弃或吸弃溶液。
10. 加入 500µl Buffer BXW1，涡旋 15 秒重悬磁珠。转移至磁力架上吸附 1~2 分钟。倒弃或吸弃溶液。
11. 加入 500µl Buffer GW2，涡旋 15 秒重悬磁珠。转移至磁力架上吸附 1 分钟。倒弃或吸弃溶液。
12. 重复第 11 步一次。
13. 短暂离心，吸弃所有溶液。打开管盖，空气干燥~5 分钟。加入 15~50µl Elution Buffer，涡旋打散磁珠。56℃ 振荡温育 5~10 分钟。
14. 转移至磁力架上吸附 5 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/样品等加到 96 孔深孔板对应的孔中，然后把第一部分的消化液（第 6 步）或第一部分的混合液（第 7 步），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	简易方案：150µl Buffer AL和210µl异丙醇 (为加液方便，AL和异丙醇可以预先混匀)	150µl消化液（第6步）
	标准方案：加入350-400µl Buffer BD	300µl混和液（第7步）
第2/8排孔	500µl洗涤液BXW1	
第3/9排孔	500µl 洗涤液 GW2, 20µl 磁珠液 MB	
第4/10排孔	500µl洗涤液GW2	
第6/12排孔	50~80µl洗脱液EB	

2. 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。
3. 约 30 分钟后，仪器结束。取出 96 孔板和磁力外套。
4. 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

1. 按下表把洗涤液/样品等加到 96 孔深孔板对应的孔中。
2. 按第一部分准备消化液，并加入变性液 AL。

板的名称	预装试剂	使用前加入
样品板	简易方案：150µl Buffer AL和210µl异丙醇 (为加液方便，Buffer AL和异丙醇可以预先混匀)	150µl消化液（第6步）
	标准方案：加入350-400µl Buffer BD	300µl混和液（第7步）
清洗板1	500µl 洗涤液BXW1，并放入96孔磁力套	
清洗板2	500µl 洗涤液 GW2, 20µl 磁珠液 MB	
清洗板3	500µl 洗涤液GW2	
洗脱板	50~80µl 洗脱液EB	

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 30 分钟后，仪器结束。
4. 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。

#### 【产品性能指标】

1. 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。
2. 核酸纯度：按说明书提取 150ul 血液，检测 DNA 产物时，OD260/280 值在 1.7-2.0, A260/230 在 1.2-1.8，且 CV 值小于 10%。
3. 核酸产量：根据说明书提取 5mg 肝脏样品时，检测 DNA 产物时，核酸产量在 10~13ug，且 CV 值小于 15%。

#### 【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