

**【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: C 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	12 mg	24 mg	重组蛋白酶 K
蛋白酶溶解液	1.8 ml	1.5 ml	Tris/CaCl <sub>2</sub> /甘油
脱蜡液 DPS	30 ml	60 ml	烷烃混和物
消化液 ATL	10 ml	15 ml	Tris/EDTA/SDS
结合液 GXP	10 ml	20 ml	异硫氰酸胍
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

**【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 0.6ml/1.2ml 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(<8 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 15~20 秒让石蜡充分溶解。
- 加入 200μl 消化液 ATL 至样品中, 吸打几下。
- 13,000 x g 离心 1 分钟。加入 20μl 蛋白酶 K 至下层溶液, 吸打~3 次。
- 56°C 温育 60~120 分钟, 90°C 温育 60 分钟。13,000 x g 离心 1 分钟。
- 按第二步的 DNA/RNA 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(<8 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 ATL 和 20μl 蛋白酶 K, 涡旋 10~15 秒。56°C 温育 60~120 分钟, 90°C 温育 60 分钟。
- 13,000 x g 离心 1 分钟。按第二步的 DNA/RNA 流程进行操作。

## 第二部分: 过柱纯化

### DNA 提取

1. 取第 5 步获得的上清液, 加入 500 $\mu$ l 结合液 GXP, 涡旋混匀 10 秒。
2. 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。
3. 保存滤液, 用于 RNA 提取。把柱子装回收集管中, 加入 500 $\mu$ l 洗涤液 VHB, 10,000  $\times$  g 离心 30-60 秒。
4. 倒弃滤液, 把柱子装回收集管中, 加入 500 $\mu$ l 洗涤液 RW2, 10,000  $\times$  g 离心 30-60 秒。
5. 倒弃滤液, 把柱子装回收集管中, 加入 500 $\mu$ l 洗涤液 RW2, 10,000  $\times$  g 离心 30-60 秒。
6. 倒弃滤液, 把柱子装回收集管中。13,000  $\times$  g 离心 2 分钟, 以甩干柱子的基质。
7. 将柱子转移至新的 1.5ml 离心管, 加入 20-50 $\mu$ l 预热至 56 $^{\circ}$ C 洗脱液 NFW 至柱子的膜中央。放置 3 分钟, 13,000  $\times$  g 离心 1 分钟。
8. 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。

### RNA 提取

9. 第三步的滤液至新的离心管中, 加入 500 $\mu$ l 无水乙醇至滤液中, 涡旋混匀 10 秒。
10. 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。
11. 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。
12. 倒弃滤液, 把柱子装在收集管中。加入 500 $\mu$ l 洗涤液 VHB 至柱子, 10,000  $\times$  g 离心 30-60 秒。
13. 倒弃滤液, 把柱子装在收集管中。加入 500 $\mu$ l 洗涤液 RW2 至柱子, 10,000  $\times$  g 离心 30-60 秒。
14. 倒弃滤液, 把柱子装在收集管中。加入 500 $\mu$ l 洗涤液 RW2 至柱子, 10,000  $\times$  g 离心 30-60 秒。
15. 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。
16. 将柱子转移至新的 1.5ml 离心管。加入 15-50 $\mu$ 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。
17. 弃去柱子, 把 RNA 保存于 -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】

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 2.5mg 经福尔马林固定的肝脏, 检测产物时, 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: 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 $\mu$ g, 检测 RNA 产物时, 核酸产量在 2~5 $\mu$ g, 且 CV 值小于 15%。

### 【注意事项】

1. 本品仅用于体外诊断。
2. 实验前请仔细阅读本说明书。
3. 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》。
4. 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