

【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), 版本: PX

【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 Particles N	1.2 ml	5 ml	磁珠液
蛋白酶 K	24 mg	100 mg	重组蛋白酶 K
蛋白酶溶解液	1.8 ml	6 ml	甘油/Tris/CaCl ₂
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 ₂ /CaCl ₂
消化液 PXL	30 ml	120 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 GW1	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

【储存条件及有效期】

本产品除 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/5.0ml 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 GW1/MW2 加入适量的无水乙醇进行稀释。
- 使用前, 按标签所示, 结合液 MCB 加入适量的异丙醇进行稀释。
- (可选) 使用前, 每 1ml 的消化液 PXL 加入 20µl 1M DTT 或 1M TCEP(自备), 以提高变性能力。

第一部分: 样品的裂解和消化

- 组织:** 称取不超过 10mg 组织至 1.5ml 离心管中, 加入 500µl 消化液 PXL 和 20µl Proteinase K 进行匀浆。室温下, 14,000 x g 离心 3 分钟, 转移上清液至新的离心管中。
- 悬浮细胞(不超过 5x10⁶):** 500 x g 离心 10 分钟收集细胞, 去除培养基。涡旋或弹打松散细胞, 加入 500µl 消化液 PXL 和 20µl Proteinase K, 立即涡旋混匀裂解细胞, 室温放置 10 分钟。
- 贴壁细胞:** 彻底吸去培养基, 加入 500µl 消化液 PXL 和 20µl Proteinase K, 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, 室温放置 10 分钟。
- 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 PXL 和 20µl Proteinase K, 立即涡旋混匀, 室温放置 10 分钟。
- 骨髓:** 取 50~100µl 骨髓, 加入 400µl 消化液 PXL 和 20µl Proteinase K, 涡旋混匀, 室温放置 10 分钟。
- 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 PXL 和 20µl Proteinase K 至样品中, 用移液枪吸打数次。
- Paxigene Tube/RNAsafer LS Reagent 保存的血液:** 取出 Paxigene Tube 或 RNAsafer LS Reagent 保存的样品, 室温静置 2 小时恢复至室温(室温保存样品无需静置)。室温下, 3,000-5,000 x g 离心 15 分钟收集 DNA&RNA 沉淀。倒弃上清液, 短暂离心收集液滴, 吸尽全部残液。加入 500µl Buffer PXL 和 20µl Proteinase K, 涡旋, 55°C 高速振荡温育 15~20 分钟或直至沉淀完全消失。
- 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

- 在 1.5ml 离心管中，先加入 450µl 结合液 MCB，然后加入第一部分消化液或上清液(400~500µl) 至离心管中，涡旋 10~15 秒。
- 加入 20µl MagPure Particles N，颠倒混匀 10-15 次，室温放置 10 分钟，其间颠倒数次。转移至磁力架上吸附 2 分钟，倒弃或吸弃溶液。
- 加入 500µl Buffer GW1，涡旋 10 秒。磁力架静置 1 分钟，吸弃溶液，瞬离吸尽残液，空气干燥 3 分钟。
- 加入 300µl DNase 混和液(290µl DNase Buffer +10µl DNase I)，室温振荡(800rpm)温育 20~30 分钟消化去除基因组 DNA。
- 加入 450µl Buffer MCB 至样品，颠倒 10~15 次，室温放置 6 分钟，期间颠倒 3~5 次。转移至磁力架上吸附 1 分钟，倒弃或吸弃溶液。
- 加入 500µl Buffer GW1，涡旋 10 秒。转移至磁力架上吸附 1 分钟。倒弃或吸弃溶液。
- 加入 500µl Buffer MW2，涡旋 10 秒。转移至磁力架上吸附 1 分钟。倒弃或吸弃溶液。
- 加入 500µl Buffer MW2，涡旋 10 秒。转移至磁力架上吸附 1 分钟。倒弃或吸弃溶液。
- 短暂离心。转移至磁力架上，吸弃所有的溶液。空气干燥 10 分钟。
- 加入 50µl RNase Free Water 至样品中，涡旋打散磁珠。室温静置 3 分钟。转移至磁力架上吸附 3 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

- 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	第一部分的消化液或上清液 (400-500µl)
第2/8排孔	500µl洗涤液GW1和20ul磁珠MPN	
第3/9排孔	280µl DNase Buffer 和 10µl DNase I	
第4/10排孔	500µl 洗涤液 GW1	
第5/11排孔	800µl洗涤液MW2	
第6/12排孔	50~75µl洗脱液RFW	

- 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。
- 约 20 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。
- 约 25 分钟后结束。取出 96 孔板和磁力外套。
- 把 RNA 转移至 1.5ml 离心管中，把产物保存于-20~8℃。

【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

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	预混	1	900	2min	8	0	0	0	0	0	自动	/	/
2	吸磁	2	500	0.5min	8	0	0	90s	0	0	自动	/	/
3	结合	1	900	8min	8	0	0	90s	30	30	自动	/	/
4	清洗1	2	500	1min	8	0	0	90s	0	0	自动	/	/
5	酶解	3	300	15min	8	0	0	0	0	0	自动	/	/
6	暂停	3	300	0	8	暂停		0	0	0	自动	/	/
7	重结合	3	800	8min	8	0	0	90s	15	15	自动	/	/
8	清洗2	4	500	2min	8	0	0	90s	0	0	自动	/	/
9	清洗3	5	800	1min	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
10	干燥	5	500	0	0	3	晾干	0	0	0	自动	/	/
11	洗脱	6	100	6 min	9	0	0	60s	0	40	自动	6	50
12	弃磁	3	500	0.5min	9	0	0	0	0	0	自动	/	/