

【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 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 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 5x10⁶)：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 | / | / |