

【产品名称】

通用名称：核酸提取或纯化试剂

商用名称：磁珠法粪便 DNA 提取试剂盒

【包装规格】

200 人份 (货号 IVD3105)

【预期用途】

本产品适用于从粪便、拭子、匀浆液、细胞悬液等样品中提取高纯度的总核酸 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 的粒子洗涤去除蛋白质和杂质，最后 DNA 被洗脱液 AE 或灭菌水洗脱。

【主要组成成份】

货号	IVD3105-50,测试	IVD3105	主要成分
磁珠液 MP	1.6 ml	7.0 ml	磁珠液
蛋白酶 K	24 mg	50 mg	重组蛋白酶 K
蛋白酶溶解液	5 ml	10 ml	甘油/Tris/CaCl ₂
RNase A	10 mg	40 mg	牛胰核糖核酸酶
2ml 匀浆管	50 个	200 个	三种不同的研磨珠
消化液 SPL	40 ml	250 ml	Tris/EDTA/SDS
去蛋白液 PCI	40 ml	140 ml	酚氯仿
结合液 MLE*	30 ml	90 ml	异硫氰酸胍
洗涤液 BW1*	22 ml	110 ml	盐酸胍
洗脱液 AE	10 ml	60 ml	10mm Tris,pH9.0, 0.5mm EDTA

【储存条件及有效期】

本试剂盒在室温贮存时，有效期 18 个月。

【准备工作】

- 溶解蛋白酶 K: 加入 1.2ml/2.5ml 蛋白酶溶解液至瓶子中，颠倒数次后保存于-20~8℃。
- 溶解 RNase A: 加入 0.7ml/2.7ml 蛋白酶溶解液至瓶子中，颠倒数次后保存于-20~8℃。
- 75%乙醇。
- 使用前，结合液 MLE/洗涤液 BW1 按标签所示，加入适量的异丙醇/无水乙醇进行稀释。

第一部分：样品的裂解和消化

● 细菌、真菌、病毒总 DNA 提取

1. 在 2.0ml 匀浆管中，加入不超过 150mg 粪便、~0.2ml 粪便悬液、拭子样品、30-50mg 组织块等样品，然后加入 0.6ml 消化液 SPL 和 0.6ml 去蛋白液 PCI，转移至珠磨仪研磨 2~3 分钟或在涡旋仪上最高速度振荡 10 分钟。

处理其它样品时，转移 0.4ml 浸泡液、细胞悬液、匀浆液、血液、血浆、积液、培养液等样品至 2.0ml 匀浆管中，然后加入 0.2ml 消化液 SPL 和 0.6ml 去蛋白液 PCI，转移至珠磨仪上研磨 2~3 分钟或在涡旋仪上最高速度振荡 10 分钟。

2. 65℃ 水浴 20 分钟进一步裂解样品，14,000 x g 离心 5 分钟。
3. 转移 400µl 上清液至 1.5ml 离心管中，加入 10µl RNase A 混匀，放置 10 分钟。

若需要提取样品总核酸(DNA 和 RNA)时，这一步不要加入 RNase A。

4. 加入 10µl 蛋白酶 K 至上清液，按第 2/3 部进行。

● 人源 DNA 提取

1. 在 2.0ml 匀浆管中，加入~300mg 粪便、0.3ml 粪便悬液。然后加入 1.0ml 消化液 SPL 至样品中，在涡旋仪上最高速度振荡 1~2 分钟完全打散样品，室温放置 10 分钟，14,000 x g 离心 3 分钟。
2. 转移 0.6ml 上清液至 2.0ml 离心管中，加入 0.6ml 去蛋白液 PCI，涡旋混匀 10 秒。
3. 14,000 x g 离心 3 分钟。
4. 取 400µl 上清液，加入 10µl 蛋白酶 K 至上清液，按第 2/3 部分进行。

第二部分：手工提取流程

1. 加入 30µl 磁珠液 MP 和 600µl 结合液 MLE。涡旋混匀 15 秒，室温静置 10 分钟，其间涡旋混匀几次。转移至磁力架上吸附 2 分钟，倒弃或吸弃溶液。
2. 加入 500µl 洗涤液 BW1，涡旋 15 秒。转移至磁力架上吸附 1 分钟，吸弃溶液。
3. 加入 500µl 洗涤液 BW1，涡旋 15 秒。转移至磁力架上吸附 1 分钟，吸弃溶液。

- 加入 500µl 75%乙醇，涡旋 15 秒。转移至磁力架上吸附 1 分钟，吸弃溶液。
- 加入 500µl 75%乙醇，涡旋 15 秒。转移至磁力架上吸附 1 分钟，吸弃溶液。
- 短暂离心，吸尽残液。空气干燥 10 分钟。
- 加入 50~100µl 洗脱液 AE，涡旋打散磁珠。55°C 振荡温育 10 分钟。若无振荡温育，其间涡旋混匀 2~3 次加速 DNA 的溶解。
- 转移至磁力架上吸附 2 分钟，把 DNA 转移至新的离心管中。

第三部分：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	600µl 结合液MLE	400µl上清液
第2/8排孔	500µl 洗涤液BW1	
第3/9排孔	500µl 洗涤液BW1	
第4/10排孔	500µl 70~75%乙醇, 30µl 磁珠液 MP	
第5/11排孔	500µl 70~75%乙醇	
第6/12排孔	50~100µl 洗脱液AE	

- 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。
- 约 30 分钟后，仪器结束。取出 96 孔板和磁力外套。
- 把 DNA 转移至 1.5ml 离心管中，把产物保存于-20~8°C。

第三部分：96 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，

板的名称	预装试剂	使用前加入
样品板	600µl 结合液MLE, 30µl 磁珠液MP	400µl上清液
清洗板1	500µl 洗涤液BW1, 并放入96孔磁力套	
清洗板2	500µl 洗涤液BW1	
清洗板3	500µl 75%乙醇	
清洗板4	500µl 75%乙醇	
洗脱板	50~100µl 洗脱液AE	

- 打开机器，启动对应程序，按提示把 96 孔板放到仪器中。

- 约 30 分钟后，仪器结束。
- 取出 96 孔板。把产物保存于-20°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。

【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：广州高新技术产业开发区玉树工业园敬业三街7号D栋401房

生产地址：广州高新技术产业开发区玉树工业园敬业三街7号D栋401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	吸磁	4	500	0.5min	8	0	0	50s	0	0	自动	/	
2	结合	1	950	6 min	8	0	0	90s	30	30	自动	1	
3	清洗1	2	500	1 min	9	0	0	90s	0	0	自动	/	/
4	清洗2	3	500	1 min	9	0	0	90s	0	0	自动	/	/
5	清洗3	4	500	1 min	9	0	0	60s	0	0	自动	/	/
6	清洗4	5	500	1 min	9	0	0	60s	0	0	自动	/	/
7	晾干	5	500	0	0	5	晾干	0	0	0	自动	/	/
8	洗脱	6	100	6 min	10	0	0	60s	0	40	自动	6	55
9	弃磁	4	500	0.5min	9	0	0	0	0	0	自动	/	/