

### 【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 提取试剂盒

### 【包装规格】

50 人份 (货号 IVD4144)

### 【预期用途】

本产品适用于从 FFPE 样品中提取高纯度的 RNA，提取产物可用于临床体外检测使用。

### 【检验原理】

本产品基于硅胶柱纯化方式。样品在消化液 FRL 和蛋白酶 K 作用下消化，RNA 释放到消化液中。加入变性液 FBD 和乙醇后，转移至柱子中过滤，RNA 被吸附于柱子的膜上，而蛋白质则不被吸附而随溶液滤出。柱子经洗涤液洗涤蛋白质和盐分，最后 RNA 被低盐缓冲液 NW 洗脱。

### 【主要组成成份】

货号	IVD4144	主要成分
RNA 吸附柱	50	纯化柱
收集管	50	塑料管
脱蜡液 DPS	40	烷烃混和物
消化液 FRL	15 ml	Tris/EDTA/SDS
变性液 FBD	15 ml	异硫氰酸胍
洗涤液 RWC*	20 ml	异硫氰酸胍
洗涤液 RW2*	20 ml	Tris/NaCl
DNase Booster Buffer	1.5 ml	Tris/NaCl/CaCl <sub>2</sub>
DNase I (20 Units)	0.6 ml	牛胰脱氧核糖核酸酶
蛋白酶溶解液	1.8 ml	甘油/Tris/CaCl <sub>2</sub>
蛋白酶 K	24 mg	重组蛋白酶 K
NW	5 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 和 DNase I 保存于-20°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 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 RWC/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(<3 片)切片并转移至 1.5~2.0ml 离心管中。
- 加入 250µl 消化液 FRL 和 20µl 蛋白酶 K 至样品中，涡旋混匀 5 秒。
- 短暂离心，65°C 振荡温育 30 分钟。
- 85°C 温育 30 分钟。
- 立即于 14,000 x g 离心 3 分钟，离心后石蜡会在消化液表面固化成一层或颗粒物。
- 小心用移液枪转移~200µl 消化液至新的 1.5ml 离心管，按第二步进行操作。

#### 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 700µl 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 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 FRL 和 20µl 蛋白酶 K，涡旋 10~15 秒。
- 短暂离心，56°C 温育 15~30 分钟。
- 80°C 温育 30 分钟。
- 冰上放置 3 分钟，>14,000 x g 离心 5 分钟。
- 小心转移上清液至新的 1.5ml 离心管，按第二步进行操作。

## 第二部分：过柱纯化

- 加入 20 $\mu$ l DNase Booster Buffer，涡旋 10 秒，静置 2 分钟让 SDS 充分析出。
- 加入 10 $\mu$ l DNase I 至样品中。轻轻混匀，静置 15~20 分钟消化 DNA。
- 加入 400 $\mu$ l 变性液 FBD 至样品中，涡旋混匀 10 秒，静置 5 分钟灭活 DNase I。
- 加入 300 $\mu$ l 无水乙醇(>200nt)或 900 $\mu$ l 无水乙醇 (miRNA)至样品中，涡旋混匀 10 秒。
- 把 RNA 吸附柱装在收集管中。转移一半混合液至柱子中。10,000  $\times$  g 离心 30~60 秒。
- 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。
- 倒弃滤液，把柱子装在收集管。加入 500 $\mu$ l 洗涤液 RWC 至柱子。10,000  $\times$  g 离心 30~60 秒。
- 倒弃滤液，把柱子装在收集管。加入 500 $\mu$ l 洗涤液 RW2 至柱子。10,000  $\times$  g 离心 30~60 秒。
- 倒弃滤液，把柱子装回收集管。加入 500 $\mu$ l 洗涤液 RW2 至柱子。10,000  $\times$  g 离心 30~60 秒。
- 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。13,000  $\times$  g 离心空柱 3 分钟甩干柱子。
- 将柱子转移至新的 1.5ml 离心管。加入 15~50  $\mu$ l NW 至柱子的膜中央。静置 2 分钟。13,000  $\times$  g 离心 1 分钟。
- 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】

- 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。
- 核酸纯度：按说明书提取 2mg 固定的肝脏组织，检测 RNA 产物时，OD260/280 值在 1.7-2.0，A260/230 在 1.2-1.8，且 CV 值小于 10%。
- 核酸产量：根据说明书提取 2mg 固定的肝脏组织，检测 RNA 产物时，核酸产量在 5~8 $\mu$ g，且 CV 值小于 15%。

## 【注意事项】

- 本品仅用于体外诊断。
- 实验前请仔细阅读本说明书。
- 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《微生物医学实验室生物安全通用准则》和《医疗废物管理条例》。
- 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