

核酸提取纯化试剂：FFPE 组织样品基因组 DNA 一步式提取试剂盒说明书

【产品名称】

核酸提取纯化试剂

【型号规格】

FFPE 组织样品基因组 DNA 一步式提取试剂盒

【包装规格】

72 次/盒

【预期用途】

用于核酸的提取、富集、纯化等步骤。其处理后的产物用于临床体外检测使用。

【检验原理】

本试剂盒采用磁珠分离技术，利用本公司专利纤维素磁珠的亲疏水性差异进行核酸分离纯化的原理，结合本公司生产的全自动核酸纯化仪平台，从石蜡包埋组织中快速高效的提取基因组 DNA。

【主要组成成分】

FFPE 组织样品基因组 DNA 一步式提取试剂盒	72 次/盒
GT 缓冲液	500μl
裂解液	500μl
结合液	1000μl
磁珠混合液	500μl
洗涤液 1	1000μl
洗涤液 2	1000μl
ddH ₂ O	1000μl
洗脱液	1000μl

【储存条件及有效期】

室温条件下避光储存。

有效期：12 个月。

【适用仪器】

本公司生产的全自动核酸纯化仪

【样本要求】

石蜡包埋组织。

【检验方法】

一、预处理：

对于卷状样石蜡切片：

1. 加入 500μL 苏拉油，20μL 的蛋白酶 K 和 FFPE 组织样品于试剂条加热孔 well 1 的底部，然后用耐热盖盖上。
注意：如果组织太大难以裂解（表面积超过 300mm²），在加入加热孔 well 1 的底部前请把它切成 4 个段（请参阅“重要事项步骤 3”）。确保组织切片是在孔内的底部，避免耐热盖裁剪它。

对于载玻片上石蜡切片：

1. 滴几滴苏拉油于载玻片上，并小心地用刮刀刮样本到加热孔 well 1 的底部。
2. 加入 500μL 苏拉油，20μL 的蛋白酶 K 于试剂条加热孔 well 1 的底部，并冲洗玻片壁上和刀片上残余的样品，然后用耐热盖盖上。

二、上机操作：

对于 HF8/HF16 核酸纯化仪：

- 于每次实验前先将核酸纯化仪电源开启，预热 20 min。
- 从核酸纯化仪中依次取出 T 型架和试剂条架。
- 参照核酸纯化仪说明书图示，将经预处理后的试剂条（Code 405）放入核酸纯化仪的试剂条架中。
- 参照核酸纯化仪说明书图示，将收集管放入 T 型架的第 1 道，吸头&吸头套放入 T 型架的第 2 道和第 3 道。
- 先将试剂条架放入核酸纯化仪中，再放入 T 型架，使 T 型架压住试剂条。
- 关闭核酸纯化仪前门。
- 点击核酸纯化仪控制面板上的“Start”键，仪器将开始自动校准。

8. 待仪器自动校准完成后，输入试剂条的编码“405”，点击“Enter”键进入下一界面。
9. 根据样品上样体积选择“400 μ L”，
10. 确认试剂条编码、样品类型、上样体积、加热时间显示无误后，点击“Enter”键进入下一界面。
11. 确认试剂条架和 T 型架放置正确后，点击“Enter”键进入下一界面。
12. 按数字键“1”（Pure water）或“2”（10mM Tris-HCl）选择洗脱缓冲液。
13. 按数字键“1”（200 μ L）、“2”（150 μ L）、“3”（100 μ L）或“4”（60 μ L）选择最终的洗脱体积。
14. 根据实验需求，按数字键“1”（2h）或“2”（16h）选择样品裂解时间，仪器即开始自动运行。
15. 仪器完成运行后，收集管中的液体即为提取的基因组 DNA，建议立即使用，否则请放置于-20 $^{\circ}$ C 冷冻保存。
16. 将使用过后的试剂条、吸头&吸头套、样品管置于生物垃圾袋中并进行妥善处理。
17. 实验完成后，点击核酸纯化仪控制面板上的“UV”键，然后按数字键“2”（30 min），开启仪器内部的紫外线灯照射 30 min，最后关闭核酸纯化仪电源。

注：仪器运行时间约为 175 min（2 小时加热时间）-标准程序//1012min（16 小时加热程序）-高产率程序；

对于 HF16 Plus/Super 核酸纯化仪：

1. 于每次实验前先将核酸纯化仪电源开启，预热 20 min。
2. 从核酸纯化仪中依次取出 T 型架和试剂条架。
3. 参照核酸纯化仪说明书图示，将经预处理的试剂条放入核酸纯化仪的试剂条架中。
4. 参照核酸纯化仪说明书图示，将收集管放入 T 型架的第 5 道（W5），吸头放入 T 型架的第 3 道（W3），吸头&吸头套放入 T 型架的第 2 道（W2），300 μ L 吸头放入 T 型架的第 4 道（W4）（需要用到 300 μ L 吸头时执行此动作）。
5. 先将试剂条架垂直放入核酸纯化仪中，再放入 T 型架，使 T 型架压住试剂条。
6. 关闭核酸纯化仪前门。
7. 点击核酸纯化仪触控面板主界面上显示的“Start”。
8. 选择编号为“C1004 或 405”的核酸提取程序。
9. 根据实验需求，样品裂解时间选择“2h”“4h”“6h”“8h”“10h”“12h”“14h”“16h”。
10. 根据需求选择最终的洗脱体积为“200 μ L”、“150 μ L”、“100 μ L”、“60 μ L”或“30 μ L”。
11. 系统出现确认窗口，如果触控面板上显示参数设置无误，请点击“Start”，程序即开始自动运行；如果显示参数设置有误，请选择“Back”返回，然后修改设置有误的参数。
12. 仪器完成运行后，收集管中的液体即为提取的基因组 DNA，建议立即使用，否则请放置于-20 $^{\circ}$ C 冷冻保存。
13. 将使用过后的试剂条、吸头、样品管置于生物垃圾袋中并进行妥善处理。
14. 实验完成后，点击核酸纯化仪触控面板主界面上显示的“Maintenance”，选择“UV”，再选择“30min”，然后按“Start”，开启仪器内部的紫外线灯照射 30 min，最后关闭核酸纯化仪电源。

注：① Super 核酸纯化仪同时具备核酸质量检测功能，若需使用此功能，请于实验开始前仔细阅读该仪器的说明书，并按照仪器说明书的规定进行前期准备工作和上机操作。

②仪器运行时间约为 159min（（2 小时加热时间）-标准程序，不包含浓度检测）//998min（（16 小时加热程序）-高产率程序，不包含浓度检测）。

③2 小时程序和 16 小时程序均可以提取 FFPE 样品中的 DNA。2 小时程序可节约时间；选择 16 小时程序则可获得更高的 DNA 产量。如果你想提高 DNA 产量，则可以采取过夜培养（16 小时程序），但它可能会导致更大的 DNA 片段碎片。

对于 HF48 核酸纯化仪：

1. 于每次实验前先将核酸纯化仪电源开启，预热 20 min。
2. 从核酸纯化仪中依次取出 T 型架和试剂条架。
3. 参照核酸纯化仪说明书图示，将经预处理的试剂条放入核酸纯化仪的试剂条架中。
4. 参照核酸纯化仪说明书图示，将收集管放入 T 型架的第 5 道（W5），吸头放入 T 型架的第 3 道（W3），吸头&吸头套放入 T 型架的第 2 道（W2），300 μ L 吸头放入 T 型架的第 4 道（W4）（需要用到 300 μ L 吸头时执行此动作）。
5. 先将试剂条架垂直放入核酸纯化仪中，再放入 T 型架，使 T 型架压住试剂条。
6. 关闭核酸纯化仪前门。
7. 点击核酸纯化仪触控面板主界面上显示的“Start”。
8. 选择编号为“C1004 或 405”的核酸提取程序。
9. 根据实验需求，样品裂解时间选择“2h”“4h”“6h”“8h”“10h”“12h”“14h”“16h”。
10. 根据需求选择最终的洗脱体积为“200 μ L”、“150 μ L”、“100 μ L”、“60 μ L”或“30 μ L”。
11. 系统出现确认窗口，如果触控面板上显示参数设置无误，请点击“Start”，程序即开始自动运行；如果显示参数设置有误，请选择“Back”返回，然后修改设置有误的参数。

12. 仪器完成运行后,收集管中的液体即为提取的基因组 DNA,建议立即使用,否则请放置于-20 °C 冷冻保存。
13. 将使用过后的试剂条、吸头、样品管置于生物垃圾袋中并进行妥善处理。
14. 实验完成后,点击核酸纯化仪触控面板主界面上显示的“Maintenance”,选择“UV”,再选择“30min”,然后按“Start”,开启仪器内部的紫外线灯照射 30 min,最后关闭核酸纯化仪电源。

注:① Super 核酸纯化仪同时具备核酸质量检测功能,若需使用此功能,请于实验开始前仔细阅读该仪器的说明书,并按照仪器说明书的规定进行前期准备工作和上机操作。

②仪器运行时间约为 159min ((2 小时加热时间)-标准程序,不包含浓度检测) //998min ((16 小时加热程序)-高产率程序,不包含浓度检测)。

③2 小时程序和 16 小时程序均可以提取 FFPE 样品中的 DNA。2 小时程序可节约时间;选择 16 小时程序则可获得更高的 DNA 产量。如果你想提高 DNA 产量,则可以采取过夜培养(16 小时程序),但它可能会导致更大的 DNA 片段碎片。

【阳性判断值或者参考区间】: 无

【检验结果的解释】

结果	意见与建议
低产量或无 DNA 产物	<ol style="list-style-type: none"> 1. 样本裂解不充分。确保蛋白酶 K 被储存在-20°C,并使用新鲜的 PK 重新实验。 2. 样本太大以至于裂解不充分。大块 FFPE 组织样本建议切成四部分,且一卷条足以用作实验。枪尖堵塞会影响提取过程。
PCR 实验结果较差	<ol style="list-style-type: none"> 1. 低质量的 FFPE 样本。固定条件可能影响 PCR 的结果,如石蜡切片使用长期存放固定剂固定。 2. DNA 片段化。建议使用中性福尔马林溶液固定组织,并缩短固定时间。碱性及酸性福尔马林溶液会导致 DNA 片段化更严重。固定时间过长也会导致 DNA 片段化更严重。
枪尖堵塞或液体喷到过滤器上	<ol style="list-style-type: none"> 1. 样本体积太大以至于堵塞枪尖,大块组织堵塞枪尖将会导致液体喷到过滤器上或使提取无法完成,我们建议将样本切小块后加入 well 1 孔内再进行实验。 2. 样本量太大以至于堵塞枪尖。不能同时提取过大样本量。对于较大的组织样本,一卷条足以用于提取;对于较小的组织样本,我们建议不超过 20mg 的 FFPE 样本量。

【检验方法的局限性】

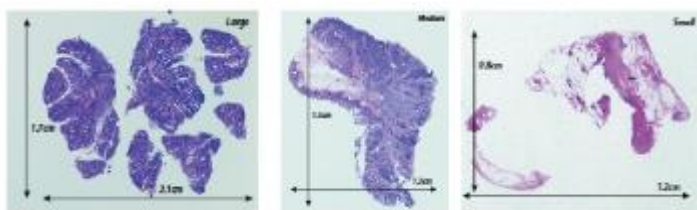
1. 本试剂盒试剂条中含有固定量的磁珠,其对样品中 DNA 的吸附量是一定的,过多的样品上样量会引起磁珠过饱和而产生结块,从而影响 DNA 提取质量,因此样品上样体积应严格遵守本试剂盒说明书的规定。

【产品性能指标】

1. 试剂盒应包装完好,外观整洁,标识清晰,试剂无漏液现象。
2. 用企业质控品进行核酸提取,所分离基因组 DNA 的质量均可满足下游分子生物学实验需求。

【注意事项】

1. 第一次使用前,请取 1.1mL 蛋白酶 K 缓冲液至蛋白酶 K 管中,混匀至终浓度为 10 mg/mL;
2. 长时间不使用时,请将蛋白酶 K 溶液(10 mg/mL)放置于-20 °C 保存;
3. FFPE 组织样品的表面面积以下测量实例为例:



4. 准备的样品量可以是 1-5 卷条,每卷条厚度应不超过 5µm。如果其表面面积大于 200 mm²,则一个 FFPE 卷条足够用于纯化;

Surface area (mm ²)	Sample scroll
200 ↑	1
100-200	1-2
50-100	2-3
50 ↓	3-5

(do not over Sula Oil's capacity: 20mg)

*Overload the sample or paraffin will clog the tip and decrease the yield.

5. 如果组织样本超过 300 mm² 时，我们建议将其切割成 4 部分以以下的实例为例：



6. 如果你不知道样品的大小，我们建议开始以不超过 1 卷条，切成每 4 部分用于实验准备；

7. 苏拉油是石蜡切片的一种脱蜡缓冲液。500μL 的苏拉油可以溶解 20mg 的石蜡；

8. 在核酸提取仪上的编码 405 的程序中有两种不同裂解时间可供选择：2 小时和 16 小时；

9. 对于不同的核酸纯化仪机型，本试剂盒的具体操作方法及步骤均有所不同，实验前请完整阅读本说明书及配套核酸纯化仪的说明书；

10. 本试剂盒的核酸提取效果会受到样品来源、样品采集过程、样品质量、样品保存条件及运输条件等多个因素的影响；

11. 不同批号试剂盒的同一成分不可相互混用，严禁使用已超过有效期的试剂盒；

12. 对样品进行预处理时，应尽量使用带滤芯的吸头，以避免样品污染移液器；

13. 如果触碰到样品，请及时更换手套，避免造成交叉污染；

14. 所有的化学药品和生物样品都存在潜在的危险性，操作时，请穿着合适的实验室工作服，并佩戴一次性手套、口罩，做好防护性措施；

15. 使用过的试剂盒与耗材为生化废弃物，应当妥善处理，勿将高浓度漂白水或酸性溶液直接与本试剂盒里的试剂或废弃液接触。

【标识的解释】：无

【参考文献】：无

【基本信息】

备案人/生产企业名称/售后服务单位名称：恺硕生物科技（厦门）有限公司

住所/生产地址：厦门火炬高新区（翔安）产业区翔星路 96 号建业楼 A 座 501 室/厦门火炬高新区（翔安）产业区建业楼 D 座 301、303 室

邮编：361115 电话：0592-7071058 传真：0592-7071052

生产备案凭证编号：闽厦食药监械生产备 20160003 号

【医疗器械备案凭证编号/产品技术要求编号】

闽厦械备 20150092 号

【说明书核准及修改日期】

核准日期：2015.08.10

修改日期：2018.05.24