

核酸提取纯化试剂使用说明书

【产品名称】病毒 DNA/RNA 提取纯化试剂盒。

英文名称: Surbiopure[®] Viral DNA /RNA Kit。

【包装规格】96T/盒、100 T/盒。

【适用范围】血清、血浆、淋巴液、无细胞体液等。

【原理】样本与病毒裂解缓冲液混合，使得病毒破碎并将核酸释放。在裂解缓冲液中纳米磁珠颗粒通过表面修饰的功能基团能与游离的 DNA/RNA 特异性的结合，形成磁珠-DNA/RNA 复合物。在外磁场力的作用下，将磁珠-DNA/RNA 复合物转移到洗涤缓冲液中，洗去多余的杂质。再在外磁场力的作用下转移到洗脱缓冲液中，将 DNA/RNA 洗脱回收。

【组成成份】

| 货号 | Sup011601 | Sup011602 | Sup011602 | 主要成分 |
|-------------------|-----------|--|----------------|----------------|
| 试剂盒规格 | 100 T | 48T | 96T | |
| Buffer AVL (含异丙醇) | 55 mL | 1C 型 (试剂条): 1T×48 条 1B 型 (96 孔板): 16T×3 板 | 96 孔预分装试剂板 6 块 | 强变性剂与 Tris 缓冲液 |
| Buffer WA | 33 mL | | | 高盐溶液 |
| Buffer WB | 24mL | | | 低盐溶液 |
| Buffer DE | 10 mL | | | 低盐溶液 |
| 磁珠 | 2 mL | | | 羟基磁珠溶液 |
| 蛋白酶 K | 2mL | 1.1mL | 2mL | 蛋白酶 K |
| 磁力套 | 12 条 (选配) | 1C 型 12 条 1B 型 6 条 | 12 条 | 无 RNase、DNase |
| 说明书 | 1 | 1 | 1 | / |

注：若购买的是 Sup011601 请在使用前在 Buffer WA 中加入 20mL 的无水乙醇。在 Buffer WB 中加入 96mL 的无水乙醇，此试剂盒需要无水乙醇用户自备。

【储存及有效期】

- 1、试剂盒可在常温保存。
- 2、试剂盒有效期为 12 个月，请在有效期内使用。

【适用设备与仪器】

磁性分离架或 MyPure-32pro、Mini16 全自动核酸提取仪。

【样本要求】

如果样本体积不足 200 μ L，请用 PBS 或者生理盐水补足。

【操作方法】

一、若购买的是 Sup011601 请按照如下手工操作方式进行实验（用户自备磁性分离架）。

- 1、加 200 μ L 血清/血浆样本到 1.5mL 无菌无核酸酶离心管、蛋白酶 K20ul。
- 2、加入 520 μ L Buffer AVL，充分振荡混匀。
- 3、将离心管放至 60 $^{\circ}$ C 金属浴或水浴中 10min（注意：期间每 2-3min，颠倒混匀几次）。
- 4、加入 20 μ L 混合均匀的磁珠，上下颠倒混匀离心管，室温静置 5min（注意：期间每隔 1min，颠倒混匀几次）。
- 5、将离心管放入磁性分离架，使其吸附磁珠，磁吸时间 1min，吸弃液体，从磁性分离架上移开离心管。
- 6、加入 500 μ L Buffer WA 到离心管中，振荡混匀，尽可能将磁珠振到完全分散，使用磁性分离架吸附磁珠，吸弃液体，从磁性分离架上移走离心管。
- 7、加入 500 μ L Buffer WB 到离心管中，上下颠倒混匀，确保磁珠完全分散，使用磁性分离架吸附磁珠，吸弃液体。
- 8、从磁性分离架上移走离心管，重复步骤 7 一次（注意：此步骤确保液体弃干净）。
- 9、室温开盖干燥 5min。
- 10、加 80-100 μ L Buffer DE，振荡混匀，此时离心管壁可能会粘附磁珠，可用移液器吸起离心管里的 Buffer DE 将其吹打下来，将离心管放至 55 $^{\circ}$ C 金属浴或水浴中 10min（注意：期间每隔 2-3min 颠倒混匀几次）。
- 11、使用磁性分离架吸附磁珠，吸取含有病毒 DNA 的液体转移到干净无菌无核酸酶的离心管中备用。若不需使用 DNA，请放入 -20 $^{\circ}$ C 冻存。

二、 配套自动化仪器使用，以 MyPure-32 全自动核酸提取仪为例。

- 1、将室温放置的 96 孔试剂板颠倒 3-5 次，有条件的用户可以在去除塑封膜前在 96 孔板离心机中短暂离心，若没有离心机也可以手甩，避免挂液，影响实验结果。小心撕去塑封膜，确认板子的方向。
- 2、在 96 孔板的第 1、7 列中各加入 200 μ L 的血清/血浆样本和 20 μ L 蛋白酶 K。
- 3、将 96 孔板放入 MyPure-32 全自动核酸提取仪的指定位置中，装上磁棒护套。
- 4、口腔拭子、咽拭子、生殖道拭子中病毒提取按照如下方案：

| 步骤 | 孔位 | 等待时间 (sec) | 混合时间 (sec) | 吸磁时间 (sec) | 容 积 (μ l) | 混合速度 | 加 热 设置 | 温 度 ($^{\circ}$ C) |
|----|----|------------|------------|------------|----------------|------|--------|---------------------|
| 1 | 2 | 0 | 0 sec | 30 sec | 500 | 快 | 关闭 | 0 |
| 2 | 1 | 0 | 300 sec | 60sec | 750 | 中 | 开启 | 70 $^{\circ}$ C |
| 3 | 2 | 0 | 90sec | 30sec | 500 | 中 | 关闭 | 0 |
| 4 | 3 | 0 | 60sec | 30sec | 500 | 中 | 关闭 | 0 |
| 5 | 4 | 0 | 60sec | 30sec | 500 | 中 | 关闭 | 0 |
| 6 | 6 | 30sec | 180sec | 60sec | 80 | 快 | 开启 | 65 $^{\circ}$ C |
| 7 | 3 | 0 | 10S | 0 | 500 | 快 | 关闭 | 0 |

5、仪器程序运行结束后，将第 6、12 列的 Buffer DE 转移至干净的无菌无核酸酶离心管子中备用，如不急需使用 DNA，可以将其放入 -20 $^{\circ}$ C 冻存。

【产品的局限性】

样本：本试剂盒不适用全血样本。

样本量：提取的最适合样本量不得超过 200 μ L。

灵敏度：需要高灵敏度的 PCR 检测试剂盒配合。

结果解释：本试剂盒手工提取的效率可能会比仪器提取稍低，由于手工操作会有一些的误差造成的。

【注意事项】

- 1、Buffer WA 和 Buffer WB 按要求加入无水乙醇（分析纯）。
- 2、如果室温过低，Buffer AVL 可能会有少许晶体析出或变浑浊，只需将其盖子拧紧放入 55 $^{\circ}$ C 的水浴中预热 5-10min，确认溶液澄清后再使用，对提取效果无影响。
- 3、上述的程序适用于 MyPure-32 全自动核酸提取仪，如果用户使用其他品牌的核酸提取仪，需根据实际使用的仪器性能进行调整程序。
- 4、实验过程中用的耗材均是 RNase-Free 的。
- 5、试剂可能刺激眼睛、皮肤或黏膜，一旦直接接触，请立即用大量清水冲洗。

【基本信息】

生产企业：广州赛百纯生物科技有限公司

地址：广州市黄埔区联浦街 16 号 402

24 小时服务热线：18926136067

邮编：510530

网址：<http://www.surbiopure.com>