

核酸提取或纯化试剂说明书

【产品名称】拭子样本基因组 DNA 纯化试剂盒

【英文名称】Surbiopure Swabs Genomic DNA Kit

【包装规格】96 T/盒、100 T/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。

【适用范围】口腔拭子、咽拭子、生殖道拭子等多种拭子样本。

【原理】拭子样本在裂解液和蛋白酶 K 的共同作用下破碎，释放出基因组 DNA。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 特异性的结合，形成磁珠-DNA 复合物。在外磁场力的作用下，将磁珠-DNA 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 洗脱回收。

【主要组成成分】

货号	Sup101601	Sup101602	主要成分
试剂盒规格	100T	96T	
拭子浸泡液	40mL	40ml	缓冲溶液
蛋白酶 K	2mL	2mL	蛋白酶 K 溶液
Buffer SSL	40mL	96 孔预分装试剂板 6 块	强变性剂与 Tris 缓冲液
Buffer WA	*33mL		高盐溶液
Buffer WB	*20mL		低盐溶液
Buffer DE	7mL		低盐溶液
磁珠	2 mL		羟基磁珠溶液
说明书	1	1	

注意：1.若购买的是 Sup101601，使用前请在*33 mL WA 中加入 20mL 无水乙醇，以及在*20mL WB 中加入 80mL 无水乙醇； 2. 本试剂盒不提供无水乙醇(分析纯)，请用户自备；

【储存及有效期】

1. 试剂盒可在常温保存，收到后蛋白酶 K 请放于-20℃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】

磁性分离架或赛百纯生物 MyPure-32 全自动核酸提取仪、恒温金属浴、涡旋振荡器。

【操作方法】

一、若购买的是 Sup101601，请按照以下手工提取方法进行操作（用户需自备磁性分离架）。

1. 样本前处理：

1.1 口腔拭子：将拭子转移到 1.5mL 离心管中，根据拭子的吸水特性，加入合适体积(400-500μL)的

拭子浸泡液和 20 μ L 蛋白酶 K，涡旋振荡 10sec 混匀。

1.2 咽拭子：将咽拭子转移到 5mL 离心管中，根据咽拭子的吸水特性，加入合适体积(1-2mL)的拭子浸泡液和 20 μ L 蛋白酶 K，涡旋振荡 10sec 混匀。

1.3 阴道拭子：根据拭子的吸水特性，加入合适体积(400-500 μ L)的拭子浸泡液和 20 μ L 蛋白酶 K，涡旋振荡 10sec 混匀。

1.4 临床 HPV 液基样品：由于样品保存在细胞保存液中或者固定液中，彻底涡旋振荡，吸取 300 μ L 到 1.5ml 离心管中，加入等体积的拭子浸泡液和 20 μ L 蛋白酶 K。

2. 56 $^{\circ}$ C 放置 30min。（**注：加热期间需每隔 10min 颠倒混匀一次。**）

3. 转移步骤 1 中的液体 300 μ L 到新的 1.5mL 离心管中。**注：取样前务必剧烈涡旋振荡，确保细胞被充分洗脱下来。**

3. 加入 Buffer SSL 300 μ L 后，70 $^{\circ}$ C 热击 10min，保证样品裂解充分。

4. 加入异丙醇 300 μ L 和 20 μ L 混合均匀的磁珠，上下颠倒混匀离心管，室温放置 5min，期间每隔 1min 需上下颠倒混匀。

5. 将离心管放入磁性分离架，使其吸附磁珠，磁吸时间 1min，吸弃上清，从磁性分离架上移走离心管。

6. 加入 500 μ L Buffer WA（**已加入无水乙醇**）到离心管中，振荡混匀，尽可能使磁珠完全分散，使用磁性分离架吸附磁珠，吸弃上清，从磁性分离架上移走离心管。

7. 加入 500 μ L Buffer WB（**已加入无水乙醇**）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，吸弃上清。

8. 从磁性分离架上移走离心管，重复步骤 7 重新洗涤一次。

注：此步骤应尽可能吸弃上清，以保证提取核酸的质量。

9. 室温开盖干燥 5min。

10. 加入 70 μ L DE，振荡混匀离心管，此时离心管壁可能会吸附磁珠，应使用移液器将其吹打下来。室温静置 10min，期间每隔 2-3min 混匀一次。

11. 使用磁性分离架吸附磁珠，小心吸取含 DNA 的上清转移到干净无菌的离心管中备用。若不立即使用，请放入-20 $^{\circ}$ C 保存备用。

二、配套自动化仪器使用，以广州赛百纯生物科技有限公司 MyPure-32 全自动核酸提取仪为例。

1. 试剂准备

a. 若购买的是 Sup101601 请按照如下操作方式进行。

在 96 孔深孔板的第 1、7 列中各加入 300μL Buffer SSL，在第 2、8 列中各加入 500μL Buffer WA（已加入无水乙醇）和 20μL 磁珠，在第 3、4 列和 9、10 列中各加入 500μL Buffer WB（已加入无水乙醇），第 5、11 列空白，在第 6、12 列中加入 80μL Buffer DE。

b. 若购买的是 Sup101602 请按照如下操作方式进行。

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（磁珠在 6/12 列）。

2. 在 96 孔板的第 1、7 列中各加入 300μL 拭子洗脱产物\蛋白酶 K 20μl，避免交叉污染。

注：取样前务必剧烈涡旋振荡，确保细胞被充分洗脱下来。

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. 请按以下表编辑程序，命名为 Swab DNA Kit 保存后，运行程序 Swab DNA Kit 进入实验。

步骤	孔位	液量 (μl)	浸泡 (秒)	搅拌强度 (级)	搅拌时间 (sec)	下降吸磁 (sec)	液底吸磁 (sec)	吸磁次数 (次)	等待时间 (秒)	暂停开/关	洗脱加热板 1/2	裂解加热板 1/2	备注
1	1	600	0	3	900	5	3	0	0	1	0	65	样品裂解
2*	1	600	0	1	900	5	3	0	0	1	0	80	逆交联
3	2	500	0	4	30	20	10	2	0	0	0	0	转移磁珠
4	1	900	0	4	300	20	10	2	0	0	0	0	结合核酸
5	2	500	0	4	60	20	10	2	0	0	0	0	去蛋白
6	3	500	0	5	60	20	10	2	0	0	0	0	去盐
7	4	500	0	5	60	20	10	2	120	0	0	0	去盐
8	6	100	0	3	180	20	10	3	0	0	65/65	0	洗脱
9	2	500	0	5	30	5	3	0	0	0	0	0	弃磁珠

2*此步骤可选，做临床 TCT 样本时，保存液中有固定剂的需要增加步骤 2，暂停时在孔 1、7 中加入 40 μl DES(选购) 进行逆交联处理。

5. 约 30min 左右，仪器暂停提示，在 96 孔板的孔 1、7 列加入 300μl 异丙醇后放回仪器内，确认卡好后，点击继续运行。

6. 仪器程序运行结束后，将第 6、12 列的 Buffer DE 转移至干净的无菌离心管中，若不立即使用，请放入-20℃保存备用。

【产品性能参考数值】

提取 DNA OD260/280 比值：1.7-2.1，DNA 浓度：≥10ng/μL。

【产品局限性】

样本量：提取口腔拭子洗脱产物体积不超过 300 μ L，体积不足 200 μ L 需要补足到 200 μ L。

结果解释：本试剂盒手工提取的效果可能会比仪器提取稍低，可能是人为手工操作的误差造成。

【注意事项】

1. Buffer WA 和 Buffer WB 请按要求加入无水乙醇（分析纯）。
2. 如果室温过低，Buffer SSL 可能会有少许晶体析出，只需将其加入 55 $^{\circ}$ C 的水浴锅中预热 5-10min，确认无晶体析出后再使用，对提取结果无影响。
3. 收到试剂盒后应将蛋白酶 K 储存在 2-8 $^{\circ}$ C。
4. 上述程序仅适用于 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。
5. 试剂可能刺激眼睛、皮肤或黏膜，一旦直接接触，请立即使用大量清水冲洗。

【基本信息】

生产企业：广州赛百纯生物科技有限公司

地址：广州市瑞和路 79 号 205 室

服务热线：18926136067

邮编：510530

邮箱：sbctek@126.com

网址：<http://www.surbiopure.com>