

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	主要成分
试剂盒规格	100 T	96T	
Buffer AVL (含异丙醇)	55 mL	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×2	12 mL×2		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	2mL	蛋白酶 K
磁力套	12 条 (选配)	12 条	AS ₇ 无 RNase、DNase
说明书	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 **48mL** 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、未开封试剂盒有效期为 12 个月,已开封试剂盒在 1 个月内用完,请在有效期内使用。
- 3、蛋白酶 K 需要置于-20℃储存,12 个月有效。
- 4、不同批次试剂组分,不能混用。

【适用设备与仪器】磁性分离架或 Auto-extractor32 全自动核酸提取仪。

【样本要求】如果样本体积不足 200μL,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法进行实验(用户自备磁性分离架)。

- 1、加 200μL 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 520μL Buffer AVL,充分振荡混匀。
- 3、将离心管放至 60℃金属浴或水浴中 10min (注意:期间每 2-3min,颠倒混匀几次)。
- 4、加入 20μL 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 500μL 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 500μL 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 80-100μL 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℃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℃冻存。

二、 配套自动化仪器使用，以 Auto-extractor32 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 Auto-extractor32 全自动核酸提取仪的指定位置中，装上磁棒护套。

4、新型冠状病毒、口腔拭子、咽拭子中病毒提取按照如下方案：

序号	步骤名称	孔位	等待时间 (min)	混合时间 (min)	吸磁次数 (times)	混合速度	溶积 (μ L)	加热孔位	温度 ($^{\circ}$ C)
1	lysis	1	0.0	5.0	2	变速	720	1	65
2	Wash1	2	0.0	1.0	1	超速	600	关闭	0
3	Wash2	3	0.0	1.0	1	超速	600	关闭	0
4	Wash 3	4	0.0	1.0	1	超速	600	关闭	0
5	elute	6	1.0	3.0	2	快速	80	6	65
6	Drop	4	0.0	1	0	超快	620	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中备用，如不急需使用 DNA，可以将其放入 -20 $^{\circ}$ C 冻存。

【产品性能参考数值】

提取灵敏度：以肝炎病毒为例，HBV-DNA, 50IU/mL; HCV-RNA, 100IU/mL。

【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 Auto-extractor32 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】

医疗器械备案号：粤穗械备 20200208 号

医疗器械生产备案号：粤穗食药监械生产备案 20200109 号

生产企业：广州赛百纯生物科技有限公司

地址：广州市瑞发路 12 号自编三栋 4 楼 401 单元

服务热线：020-82517389

邮编：510600

网址：<http://www.surbiopure.com>