

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: Viral DNA /RNA Kit。

【包装规格】96T/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】血清、血浆、淋巴液、无细胞体液、拭子保存液、拭子等样本中病毒 DNA、RNA 的提取纯化。

【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）	50 mL	96 孔预分装试剂板 6 块	强变性剂与 Tris 缓冲液
Buffer WA	25 mL		高盐溶液
Buffer WB×2	10 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		酶溶液
说明书	1	1	

注：若购买的是 SUP011601 请在使用前在 Buffer WA 中加入 25mL 的无水乙醇。在 Buffer WB 中加入 40mL 的无水乙醇。无水乙醇（分析纯）请用户自备。

【储存及有效期】

- 1、预封装试剂板：室温（15-25℃）。
- 2、未开封试剂盒有效期为 12 个月，已开封试剂 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】

磁性分离架或者 NPA-32 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。（注意：样本需混匀）。
- 2、加入 500μL 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 NPA-32 全自动核酸提取仪为例。

1、试剂准备

a. 若购买的是 SUP011601 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 500μL Buffer AVL, 在第 2、8 列中各加入 500μL Buffer WA (请确认已加无水乙醇), 在第 3、4 和 9、10 列中各加入 500μL Buffer WB (请确认已加无水乙醇), 在第 5、11 列中各加入 80-100μL Buffer DE, 在第 6、12 列中加入 180μL 纯水和 20μL 磁珠 (注意: 磁珠在加入前已经混合均匀)

若购买的是 SUP011602 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。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 200μL 的血清/血浆样本 (样本需混匀)。

3、将 96 孔板放入 NPA-32 全自动核酸提取仪的指定位置中, 装上磁棒护套。

4、请按以下程序进行实验。

步骤	孔位	名称	等待时间 (min: ss)	混合时间 (min: ss)	磁吸时间 (min: ss)	强力 吸附	混合 速度	体积 (μL)
1	1	混匀	0:0	5:0	0:0		快速	700
2	6	吸磁珠	0:0	0:15	0:30	√	慢速	200
3	1	结合	0:0	5:0	1:00	√	快速	700
4	2	洗涤 1	0:0	2:0	0:30	√	快速	500
5	3	洗涤 2	0:0	1:0	0:30	√	快速	500
6	4	洗涤 3	0:0	1:0	0:30	√	快速	500
7	5	洗脱	2:0	5:0	1:00		慢速	70
8	6	弃磁珠	0:0	0:30	0:0		慢速	200

注: 裂解温度设置成 85℃, 裂解加热终止步骤 2, 洗脱温度设置成 65℃, 洗脱温度开始步骤 7。

5、仪器程序运行结束后, 将第 5、11 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℃ 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 200μL。

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℃ 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 NPA-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】

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>