

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 300 μ L Buffer SSL，在第 2、8 列中各加入 500 μ L Buffer WA（已加入无水乙醇）和 20 μ L 磁珠，在第 3、4 列和 9、10 列中各加入 500 μ L Buffer WB（已加入无水乙醇），第 5、11 列空白，在第 6、12 列中加入 80 μ L 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 300 μ L 拭子洗脱产物\蛋白酶 K 20 μ l，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 (μ l)	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 μ l 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 300 μ l 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 $^{\circ}$ C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： \geq 10ng/ μ L。

【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>