

核酸提取纯化试剂使用说明书 (GenePure-32)

【产品名称】 Surbiopure 全血基因组 DNA 纯化试剂盒。

英文名称: Surbiopure Blood Genomic DNA Kit.

【包装规格】 96 T/盒、100 T/盒。

【适用范围】 各类哺乳动物抗凝全血、分离的白细胞、细胞悬液等提取纯化病毒 RNA&DNA。

【原理】 样本与细胞裂解缓冲液混合, 使得细胞破碎并将核酸释放。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 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。

【组成成份】

| 货号 | Sup051601 | Sup051602 | 主要成分 |
|------------------|-----------|-------------------|----------------|
| 试剂盒规格 | 100T | 96T | |
| 蛋白酶 K | 2mL | 2mL | 蛋白酶 K 溶液 |
| Buffer ABL(含异丙醇) | 60mL | 96 孔预分装试剂板 6 块 | 强变性剂与 Tris 缓冲液 |
| Buffer WA | 35mL | | 高盐溶液 |
| Buffer WB×2 | 14mL×2 | | 低盐溶液 |
| Buffer DE | 10mL | | 低盐溶液 |
| 磁珠 | 2mL | | 羟基磁珠溶液 |
| 说明书 | 1 | 1 | |

注: 若购买的是 82111038 请在使用前在 **Buffer WA** 中加入 **35mL** 的无水乙醇。在 **Buffer WB** 中加入 **56mL** 的无水乙醇。无水乙醇、异丙醇(分析纯)需要但需用户自备。

【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】

磁性分离架或者 Gene Pura-32 全自动核酸提取仪。

【样本要求】

- 1、如果样本体积不足 200 μ L, 请用 PBS 或者生理盐水补足。
- 2、提取其他哺乳动物血液样本与人类全血一致。

【操作方法】

- 一、若购买的是 82111038 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 20 μ L 蛋白酶 K 到 1.5mL 无菌离心管底。
 - 2、加 200 μ L 抗凝全血样本(注意: 样本需混匀)。
 - 3、加入 600 μ L Buffer ABL, 剧烈振荡混匀 25s。
 - 4、56 $^{\circ}$ C 孵育 10min(注意: 期间每个 2-3min, 颠倒混匀几次, 若冬季或实验环境温度比较低, Buffer ABL 会变浑浊, 可以将离心管放至 56 $^{\circ}$ C)。
 - 5、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)。
 - 6、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。
 - 7、加入 700 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。
 - 8、加入 700 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。
 - 9、从磁性分离架上移走离心管, 重复步骤 8 一次(注意: 此步骤确保液体弃干净)。
 - 10、室温开盖干燥 5min。
 - 11、加 100 μ L Buffer DE, 振荡混匀离心管, 此时离心管壁可能会吸附磁珠, 用移液

器将其吹打下来，室温静置 10min（注意：期间每隔 2-3min 混匀一次，若冬季或实验环境温度比较低可以将离心管放至 60℃）。

12、使用磁性分离架吸附磁珠，小心吸取含有 DNA 的液体转移到干净无菌的离心管中备用。若不需使用 DNA，请放入-20℃冻存。

二、 配套自动化仪器使用，以 Gene Purs-32 全自动核酸提取仪为例。

1、试剂准备

a. 若购买的是 Sup051601 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 600μL Buffer ABL, 在第 2、8 列中各加入 600μL Buffer WA（请确认已加无水乙醇），在第 3、4 和 9、10 列中各加入 600μL Buffer WB（请确认已加无水乙醇），在第 5、11 列中各加入 100μL Buffer DE，在第 6、12 列中加入 400μL 纯水和 20μL 磁珠（注意：磁珠在加入前已经混合均匀）。

b. 若购买的是 Sup051602 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 的样本（样本需混匀）和 20μL 的蛋白酶 K。

3、将 96 孔板放入 Gene Pure-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 | 槽位 | 名称 | 等待时间（秒） | 混合时间（秒） | 磁吸时间（秒） | 混合速度 | 体积 | 吸附模式 |
|----|----|------|---------|---------|---------|------|-----|------|
| 1 | 1 | 裂解 | 0 | 600 | 0 | 快速 | 800 | 关 |
| 2 | 6 | 吸磁珠 | 0 | 10 | 60 | 快速 | 400 | 循环 |
| 3 | 1 | 结合 | 0 | 300 | 90 | 快速 | 800 | 循环 |
| 4 | 2 | 洗涤 1 | 0 | 60 | 60 | 快速 | 600 | 循环 |
| 5 | 3 | 洗涤 2 | 0 | 60 | 60 | 快速 | 600 | 循环 |
| 6 | 4 | 洗涤 3 | 0 | 60 | 60 | 快速 | 600 | 循环 |
| 7 | 5 | 洗脱 | 60 | 600 | 90 | 快速 | 100 | 循环 |
| 8 | 6 | 弃磁珠 | 0 | 20 | 0 | 快速 | 400 | 关 |

裂解温度设置成 80℃，裂解加热终止步骤 2，洗脱温度设置成 70℃，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 转移至干净的无菌离心管子中备用，如不需使用 DNA，可以将其放入-20℃冻存。

【产品性能参考数值】

提取的 DNA OD260/OD280 比值：1.7-2.0，浓度：≥5μg/200μL 新鲜全血，若为陈旧的血样则：≥2μg/200μL 全血。

【产品的局限性】

样本：本试剂盒适用于抗凝的全血，若样本已经凝结成血块，则会对提取效果有影响。
样本量：提取的样本量不得超过 200μL。

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 ABL 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；若没有水浴，也可以将浑浊的裂解液颠倒混匀几次，直接使用，对提取效果无影响。
- 3、上述的程序适用于 Gene Purs-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、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：广州市黄埔区瑞和路 79 号 205

24 小时服务热线：18926136067

邮编：510600

邮箱：sbctck@126.com

网址：<http://www.surbiopure.com>

Surbiopure®