



北京艾德莱生物科技有限公司

Aidlab Biotechnologies Co., Ltd

- ◆ 病毒基因组DNA/RNA快速提取试剂盒 I
 - ◆ 目录号 RN32
 - ◆ 使用手册
 - ◆ 实验室使用，仅用于体外
-

❖ 试剂盒组成、储存、稳定性:

试剂盒组成	保存	50 次 (RN3201)	100 次(RN3202)
裂解液 VCB	室温	10 ml	20 ml
Poly Carrier	-20℃	100µl	200µl
去蛋白液 RE	室温	25 ml	50 ml
漂洗液 RW	室温	10 ml 第一次使用前按说明加指定量乙醇	10 ml x 2
蛋白酶 K 粉 20mg/ml	-20℃	20 mg	20 mg x 2
RNase-free H ₂ O	室温	10 ml	10 ml
RNase-free 吸附柱 RA 和收集管	室温	50 套	100 套

室温储存 12 个月不影响使用效果，各溶液使用后应及时盖紧盖子。

注意: 为避免降低活性，方便运输，提供**蛋白酶 K 为冻干粉状**，收到后，可短暂离心后，加入 **1 毫升灭菌水溶解**。因为反复冻融可能会降低酶活性，因此溶解后立即按照每次使用量(20 微升)分装冻存，-20℃ 保存。

❖ 产品介绍:

采用特异性结合病毒 DNA/RNA 的离心吸附柱和独特的缓冲液系统，病毒 DNA/RNA 提取试剂盒适合于从无细胞体液，包括血浆、血清、腹水、培养细胞上清液、脑脊髓液及尿液等中快速提取高纯的病毒 DNA/RNA。该产品可以满足绝大多数的病毒 RNA/DNA 的同时提取要求，如病毒 RNA: HCV (丙肝病毒), HIV (艾滋病病毒), 和 HTLV (人类嗜 T 淋巴细胞病毒); 病毒 DNA: HBV (乙肝病毒) 和 CMV (巨细胞病毒) 等等。病毒裂解后，DNA/RNA 后在高离序盐状态下选择性吸附于离心柱内硅基质膜 (特别配备了 Poly Carrier 可以从体系中轻松捕获微量核酸)，再通过一系列快速的漂洗—离心的步骤，将盐、细胞代谢物、蛋白等杂质去除，最后低盐的洗脱缓冲液将纯净的病毒 DNA/RNA 从硅基质膜上洗脱。纯化后的病毒核酸无杂质和 PCR 抑制剂，可直接适用于 PCR/RT-PCR 分析。



❖ **产品特点：**

1. 不需要使用有毒的苯酚等试剂，也不需要乙醇沉淀等步骤。
2. 节省时间，简捷，单个样品操作一般可在 30 分钟内完成。
3. 多次柱漂洗确保高纯度，提取的病毒 DNA/RNA 纯度高，质量稳定可靠，可适用于各种常规操作，包括 PCR/RT-PCR、酶切、测序、Southern 杂交等。

❖ **注意事项：**

1. **所有的离心步骤均在室温完成**，使用转速可以达到13,000rpm的传统台式离心机，如Eppendorf 5415C 或者类似离心机。
2. 开始实验前将需要的水浴先预热到特定温度备用。

3. **Poly Carrier:**

Poly Carrier 使用方法：如果起始处理量很少，我们推荐使用 Poly Carrier，如果预期有较大量核酸产量，用户可以根据需要选择是否加入 Poly Carrier。使用时在每个样品提取所需裂解液 VCB 中加入 2 μ l Poly Carrier 储存溶液，将裂解液 VCB 与 Poly Carrier 溶液**充分颠倒混匀**即可(裂解液 VCB 容易起泡沫，请勿使用涡旋振荡混匀)。也可根据样品数量，在总共需要的裂解液 VCB 中加入总共需要的 Poly Carrier 混匀备用。混合液在室温 24 小时内稳定。

❖ **操作步骤：**（实验前请先阅读注意事项）

提示：第一次使用前请先在 10ml 漂洗液 RW 中加入 40ml 无水乙醇，充分混匀，加入后请及时在方框打钩标记已加入乙醇，以免多次加入！

1. 在一个新的 1.5ml 离心管内加入 20 μ l 蛋白酶 k。
2. 向上述离心管内加入 200 μ l 血清等体液（需回复到室温，不足可用 0.9% NaCl 或者 PBS 补足），加入 200 μ l 裂解液 VCB，**立刻涡旋振荡充分混匀**。



如果处理样品量小或者病毒预期浓度较低，建议在 200 μ l 裂解液 VCB 中加入 2 μ l Poly Carrier 储存溶液。

3. 56 $^{\circ}$ C 孵育 15 分钟。
4. 加入 250 μ l 无水乙醇，立刻涡旋振荡充分混匀，室温放置 5 分钟。

如果周围环境高于 25 $^{\circ}$ C,乙醇需要冰上预冷后再加入。

5. 将上述混合物加入一个吸附柱 RA 中，（吸附柱放入收集管中）13,000rpm 离心 30-60 秒，倒掉收集管中的废液。
6. 加入 500 μ l 去蛋白液 RE，12,000rpm 离心 30 秒，弃废液。
7. 加入 500 μ l 漂洗液 RW（请先检查是否已加入无水乙醇!），12,000rpm 离心 30 秒，弃废液，加入 500 μ l 漂洗液 RW，重复一遍。
8. 将吸附柱 RA 放回空收集管中，13,000rpm 离心 2 分钟，尽量除去漂洗液，以免漂洗液中残留乙醇抑制下游反应。
9. 取出吸附柱 RA,放入一个 RNase free 的离心管中，在吸附膜的中间部位加 30-50 μ l RNase free H₂O（事先在 65-70 $^{\circ}$ C 水浴中加热效果更好），室温放置 1 分钟，12,000rpm 离心 1 分钟。如果想得到较多量的 DNA/RNA，可将得到的溶液重新加入离心吸附柱中，12,000rpm 离心 1 分钟。

洗脱体积越大，洗脱效率越高。如果需要 DNA/RNA 浓度较高，可以适当减少洗脱体积，但是最小体积不应少于 20 μ l，体积过小降低洗脱效率，减少 DNA/RNA 产量。

10. 病毒 DNA 可以存放在 2-8 $^{\circ}$ C，如果要长时间存放，可以放置在 -20 $^{\circ}$ C。病毒 RNA 建议最好立刻使用，否则立刻短期放置在 -70 $^{\circ}$ C 备用。