

病毒基因组DNA/RNA 快速提取试剂盒



Virus Rapid DNA or RNA Kit

产品信息:

| 试剂盒组成 | 保存 | RA108-01 |
|-----------------------------|----|----------------------------------|
| | | 50 次 |
| 结合液 RQ | 室温 | 15 ml |
| 去蛋白液 RE | 室温 | 25 ml |
| | | 10 ml |
| 漂洗液 RW | 室温 | 第一次使用前加入 40 ml 无水乙醇 |
| Carrier RNA | 室温 | 310 μ l (1 μ g/ μ l) |
| RNase-free H ₂ O | 室温 | 10 ml |
| 蛋白酶 K (20 mg/ml) | 室温 | 1 ml |
| RNase-free 吸附柱RA | 室温 | 50 个 |
| 收集管 | 室温 | 50 个 |
| RNase-free 离心管 (1.5 ml) | 室温 | 50 个 |

保存条件: 本产品收到后按照上面指示温度存放各成份，储存 12 个月不影响使用效果。

储存事项:

- 结合液 RQ 和去蛋白液 RE 低温时可能出现析出和沉淀，可以在 37℃ 水浴几分钟重新溶解，**恢复澄清透明后冷却到室温**即可使用。
- Carrier RNA 加入结合液 RQ 后，-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体液，包括血浆、血清、腹水、培养细胞上清液、脑脊髓液及尿液中等快速提取高纯病毒 DNA/RNA。病毒 DNA/RNA 裂解消化处理后在高离序盐状态下选择性吸附于离心柱内硅基质膜（特别配备的 Carrier RNA 可以从体系中轻松捕获微量病毒DNA/RNA），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，最后在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。

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12,000 rpm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65℃备用。
3. 结合液RQ和去蛋白液RE含有刺激性化合物，操作时要戴乳胶手套，**避免沾染皮肤、眼睛和衣服。若沾染皮肤、眼睛时，要用大量清水或者生理盐水冲洗。**

4. Carrier RNA工作液的配制如下：

- 1) 根据样品的数量计算所需结合液 RQ 和 Carrier RNA 溶液的体积（见表 1 或使用以下公式计算），将结合液 RQ 与 Carrier RNA 溶液颠倒充分混匀，即得到 Carrier RNA 工作液；如果需要提取大量的样品，可根据以下公式计算：

$$n \times 0.22 \text{ ml} = y \text{ ml}, y \text{ ml} \times 27.3 \mu\text{l/ml} = z \mu\text{l}$$

n=同时提取的样品个数；

y=加入结合液 RQ 的体积；

z=加入 CarrierRNA 溶液的体积。

| 样品个数（个） | 结合液 RQ（ml） | CarrierRNA（μl） |
|---------|------------|----------------|
| 1 | 0.22 | 6 |
| 2 | 0.44 | 12 |
| 3 | 0.66 | 18 |
| 4 | 0.88 | 24 |
| 5 | 1.1 | 30 |
| 6 | 1.32 | 36 |
| 7 | 1.54 | 42 |
| 8 | 1.76 | 48 |
| 9 | 1.98 | 54 |
| 10 | 2.2 | 60 |

表 1

注意: 结合液 RQ 容易起泡沫,请勿使用涡旋振荡混匀。将结合液 RQ 与 Carrier RNA 溶液颠倒充分混匀,即得到 Carrier RNA 工作液,工作液在室温 24 小时内稳定。

操作步骤:

提示: 第一次使用前请先在 10 ml 漂洗液 RW 中加入 40 ml 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 取 20 μ l 蛋白酶 K(20 mg/ml)加入新的 (RNase free) 1.5 ml 离心管。
- 2 取 200 μ l 血清等体液 (需恢复到室温,不足可用 0.9% NaCl 或者 PBS 补足)转入上述 1.5 ml 离心管,加入 200 μ l Carrier RNA 工作液 (为结合液 RQ 与 Carrier RNA 的混合液, 配制方法如表 1 或按照公式计算), **立即涡旋充分混匀。**

为了保证裂解充分,样品和 Carrier RNA 工作液需要彻底混匀,可短暂涡旋。使用的体液最多为 300 μ l, Carrier RNA 工作液需要按照比例增加。

- 3 56 $^{\circ}$ C 温育 15 min, 不时颠倒数次混匀。
- 4 冷却后加入 250 μ l 无水乙醇, **立刻涡旋振荡充分混匀**, 室温(15-25 $^{\circ}$ C)放置 5 min。
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) 12,000 rpm 离心 30-60 sec, 倒掉收集管中的废液。

- 6 加 500 μ l 去蛋白液 RE, 12,000 rpm 离心 30 sec, 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!**), 12,000 rpm 离心 30 sec, 弃废液。

- 8 重复步骤 7

- 9 将吸附柱 RA 放回空收集管中, 12,000 rpm 离心 2 min, 将吸附柱置于室温放置数分钟, 以彻底晾干吸附材料中残余的漂洗液。

- 10 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 50 μ l RNase free H₂O (事先在 65 $^{\circ}$ C 水浴中加热效果更好), 室温放置 1 min, 12,000 rpm 离心 1 min。如果想得到较多的 DNA, 可将得到的溶液重新加入离心吸附柱中, 12,000 rpm 离心 1 min。

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, 体积小降低洗脱效率, 减少 DNA/RNA 产量。

- 11 DNA 病毒可以存放在 2-8 $^{\circ}$ C, 若要长时间存放, 可以放置在 -20 $^{\circ}$ C。RNA 病毒建议最好立刻使用, 否则立刻放置在 -70 $^{\circ}$ C 备用。

对于 RNA 含量少 ($\leq 5 \mu\text{g}$) 的样品, 可以选择购买本公司微量 DNA/RNA 通用吸附柱 (货号: QA3101), 此吸附柱最小洗脱体积为 $5 \mu\text{l}$, 可提高 RNA 的洗脱浓度, 帮助后续实验的进行。

BM20200703