

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
漂洗液 RW	室温	10ml 第一次使用前按说明加指定量乙醇
Carrier RNA	-20℃	50μl
RNase-free H ₂ O	室温	10 ml
蛋白酶 K (20mg/ml)	-20℃	1ml
RNase-free 吸附柱 RA	室温	50 个
收集管	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, 在 2-8℃ 最多能保存 48 小时, 请现用现配。

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:

- 所有的离心步骤均在室温完成, 使用转速可以达到 12,000rpm 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：

$$n \times 0.22 \text{ml} = y \text{ ml}, \quad y \text{ml} \times 4.5 \mu\text{l/ml} = z \mu\text{l}$$

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	1
2	0.44	2
3	0.66	3
4	0.88	4
5	1.10	5
6	1.32	6
7	1.54	7
8	1.76	8
9	1.98	9
10	2.20	10

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，工作液在室温条件下能保存 24 小时。

操作步骤：

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. 取 20 μl 蛋白酶 K(20mg/ml)加入新的 (RNase free) 1.5ml 离心管。
2. 取 200 μl 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 1.5ml 离心管，加入 200 μl 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。

- 56 $^{\circ}$ C温育 15 min，不时颠倒数次混匀。
- 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。
- 将上述混合物加入一个吸附柱 RA 中，（吸附柱放入收集管中）12,000rpm 离心 30-60 sec，倒掉收集管中的废液。
- 加 500 μ l 去蛋白液 RE，12,000rpm 离心 30 sec，弃废液。
- 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 sec，弃废液。
- 重复步骤 7
- 将吸附柱 RA 放回空收集管中，12,000rpm 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。
- 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，12,000rpm 离心 1 min。如果想得到较多量的 DNA，可将得到的溶液重新加入离心吸附柱中，12,000rpm 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。
- 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。