

五、操作步骤

* 第一次使用前请先在漂洗液 RW 中加入指定量无水乙醇!

1. 取 200 μ l 含病毒的液体 (血清、血浆、全血等), 放入 1.5ml 离心管。
对如果液体起始量小于 200 μ l, 则用缓冲液 VB 补足到 200 μ l。如果起始量介于 200 μ l-300 μ l 之间, 则后续操作需要按照比例增加试剂用量。对于组织样本应当先研磨, 然后用 200 μ l 的缓冲液 VB 重悬, 然后在加到病毒裂解液中。
2. 加入 600 μ l 的病毒结合液, 加入 20 μ l 蛋白酶 K (20mg/ml) 溶液, 6 μ l 的核酸助沉剂, 振荡 15 秒, 充分混匀, 65 $^{\circ}$ C 水浴 15 分钟, 期间颠倒混匀 3-4 次, 直到溶液应清亮为止。
3. 加入 100 μ l 无水乙醇, 上下颠倒, 充分混匀, 此时可能会出现絮状沉淀。
上述各操作步骤中适当力度充分混匀非常重要, 混匀不充分严重降低产量。
4. 将上一步所得溶液和可能的絮状沉淀分两次加入一个吸附柱 RA 中, (吸附柱放入收集管中) 10,000 rpm 离心 30 秒, 倒掉收集管中的废液。
5. 加入 600 μ l 去蛋白液 RE, 12,000 rpm 离心 30 秒, 弃废液。
6. 加入 700 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 秒, 弃掉废液。
7. 将吸附柱 RA 放回空收集管中, 13,000 rpm 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。
8. 取出吸附柱 RA, 放入一个干净的离心管中, 在吸附膜的中间部位加 30-50 μ l Wash buffer (Wash buffer 事先在 65-70 $^{\circ}$ C 水浴中预热), 室温放置 2 分钟, 12,000 rpm 离心 1 分钟。将得到的溶液重新加入离心吸附柱中, 室温放置 2 分钟, 12,000 rpm 离心 1 分钟。
9. 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。RNA 最好直接反转录成 cDNA 保存, 或者 RNA 保存于 -80 $^{\circ}$ C。

一般实验室使用, 仅用于 *体外*

病毒基因组 DNA/RNA 快速提取试剂盒 升级版 (离心柱型)

用于快速提取病毒基因组 DNA/RNA

目录号: DP5301 (50次)

使用手册

2015年9月9日, 第4版



北京百泰克生物技术有限公司
Bioteke Corporation

一、试剂盒组成、储存、稳定性

试剂盒组成	保存	50次 (DP5301)
缓冲液 VB	室温	5 ml
病毒结合液	室温	30 ml
蛋白酶 K (20mg/ml)	-20℃	20mg
Carrier RNA	4℃ (一个月) -20℃ (长期)	300ul
去蛋白液 RE	室温	30 ml
漂洗液 RW	4℃ (一个月)	15 ml
	-20℃ (长期)	第一次使用前请加入指定量乙醇
Wash buffer	室温	10 ml
吸附柱 RA	室温	50 个
收集管 (2ml)	室温	50 个

本试剂盒在室温储存 12 个月不影响使用效果。

注意事项

1. 第一次使用前请先在漂洗液 RW 中加入指定量乙醇(15ml RW 瓶加 60ml),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!
2. 为避免降低活性,方便运输,提供 20mg 蛋白酶 K 为冻干粉状,使用时可短暂离心后,加入 1 毫升灭菌水溶解(20mg/ml 终浓度)。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。
3. 避免试剂长时间暴露于空气中发生挥发、氧化、PH 值变化,各溶液使用后应及时盖紧盖子。

二、原理简介

独特的结合液/蛋白酶 K 迅速裂解病毒和灭活病毒内核酸酶,然后基因组 DNA 和 RNA 在高离序盐状态下选择性吸附于离心柱内硅基质膜,再通过一系

列快速的漂洗—离心的步骤,抑制物去除液和漂洗液将细胞代谢物、蛋白等杂质去除,最后低盐的洗脱缓冲液将纯净基因组 DNA 和 RNA 从硅基质膜上洗脱。

三、试剂盒特点

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. 快速,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,无抑制性杂质。
4. 本试剂盒用于从新鲜或者冷冻的血浆、血清、全血和其它无细胞体液等样品中提取病毒基因组 DNA 和 RNA,冷冻样品不要反复冻融。所得样品可以直接用于 PCR、酶切、杂交等分子生物学实验。

四、注意事项(实验前必须首先阅读这部分!)

1. 所有的离心步骤均在室温完成,使用转速可以达到13,000 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 70℃ 备用。
3. 为了最佳效果,最好使用新鲜液体标本并且避免反复冻融,否则会使提取片段较小并严重降低产量。