

五、操作步骤

* 第一次使用前请先在漂洗液 WB 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。
2. 加入200 μ l 结合液CB，振荡15秒，充分混匀，再加入20 μ l蛋白酶K (20mg/ml)溶液，颠倒轻摇充分混匀，72 $^{\circ}$ C水浴10分钟，溶液应清亮。
3. 冷却至室温，加入100 μ l 异丙醇，剧烈颠倒轻摇，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都加入一个微量吸附柱中，(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500 μ l抑制物去除液IR，12,000 rpm 离心30秒，弃废液。
6. 加入 700 μ l 漂洗液 WB(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. 加入 500 μ l 漂洗液 WB，12,000 rpm 离心 30 秒，弃掉废液。
8. 将吸附柱放回空收集管中，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。
9. 取出吸附柱，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 洗脱缓冲液 EB（洗脱缓冲液事先在 65-70 $^{\circ}$ C 水浴中预热），室温放置 2-5 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。
洗脱体积越大，洗脱效率越高，如需要 DNA 浓度较高，可以适当减少洗脱体积，但是最小体积不应少于 15 μ l。
10. 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。

一般实验室使用，仅用于体外

病毒基因组DNA快速提取试剂盒 (离心柱型)

用于快速提取病毒基因组DNA

目录号：DP3201（20次） DP3202（50次）

使用手册

2014年4月，第1版



北京百泰克生物技术有限公司

Biotek Corporation

一、试剂盒组成、储存、稳定性

试剂盒组成	保存	20次 (DP3201)	50次 (DP3202)
缓冲液 VB	室温	3 ml	5 ml
结合液 CB	室温	6 ml	15 ml
抑制物去除液 IR	室温	11 ml	27 ml
漂洗液 WB	室温	6 ml	15 ml
		第一次使用前请加入指定量乙醇	
洗脱缓冲液 EB	室温	15 ml	15 ml
异丙醇	室温	3 ml	7 ml
蛋白酶 K (20mg/ml) (仅 II 型提供)	-20℃	8mg 冻干粉	20mg 冻干粉
微量吸附柱	室温	20	50 个
收集管 (2ml)	室温	20	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

- 第一次使用前请先在漂洗液 WB 中加入指定量乙醇(6ml WB 瓶加 24 毫升,15ml WB 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!
- 结合液 CB 或者抑制物去除液 IR 低温时可能出现析出和沉淀, 可以在 37℃ 水浴几分钟帮助重新溶解, 恢复澄清透明后冷却到室温即可使用。
- 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 400 微升或者 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。
- 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 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 从硅基质膜上洗脱。

三、试剂盒特点

- 不需要使用有毒的苯酚等试剂, 也不需要乙醇沉淀等步骤。
- 快速, 简捷, 单个样品操作一般可在 20 分钟内完成。
- 多次柱漂洗确保高纯度, 无抑制性杂质。
- 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, 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!)

- 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。
- 开始实验前将需要的水浴先预热到 70℃ 备用。
- 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。