



武汉科尔普生物科技有限公司

Keep Biotechnologies Co., Ltd

- ◆ 病毒基因组DNA/RNA快速提取试剂盒 II
- ◆ 目录号 RN2201
- ◆ 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(RN2201)
裂解液 VLB	室温	20 ml
Poly Carrier	-20℃	200μl
去蛋白液 PE	室温	16 ml 第一次使用前按瓶子标签加指定量乙醇
漂洗液 RW	室温	10 ml 第一次使用前按瓶子标签加指定量乙醇
RNase-free H ₂ O	室温	5 ml
RNase-free 吸附柱 RA 和收集管	室温	50 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。Poly Carrier 常温运输，4℃可存放一个月，长期保存置于-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 20 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，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。
2. 开始实验前将需要的水浴先预热到特定温度备用。
3. 裂解液 VLB 和去蛋白液 PE 中含有刺激性化合物，操作时戴乳胶手套，**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. **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 VLB 中加入 4μl Poly Carrier 储存溶液，将裂解液 VLB 与 Poly Carrier 溶液**充分颠倒混匀**即可(裂解液 VLB 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 VLB 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)**

⇒ 第一次使用前请先在漂洗液 RW 瓶、去蛋白液 PE 瓶按照瓶子标签加入指定量无水乙醇!

1. 200μl 血清等体液 (需回复到室温，不足可用 0.9% NaCl 或者 PBS 补足) 转入上述 1.5ml 离心管，加入 400μl 裂解液 VLB，**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 400 μ l 裂解液 VLB 中加入 4 μ l Poly Carrier 储存溶液。

2. 室温(15-25 $^{\circ}$ C)放置 10 分钟,每隔 5 分钟,振荡混匀一次。
3. 加入 450 μ l 无水乙醇,立刻涡旋振荡充分混匀。

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

4. 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。

如果总体积超过 750 μ l,可分两次将溶液加入同一个吸附柱 RA 中。

5. 加 500 μ l 去蛋白液 PE (请先检查是否已加入无水乙醇!), 12,000rpm 离心 30 秒,弃废液。
6. 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。
7. 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。
8. 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。

9. 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。