

病毒核酸DNA/RNA快速提取试剂盒

KR104 50次

试剂盒组成、储存、稳定性:

试剂盒组成	保存	50次
裂解液 VLB	室温	20 ml
Poly Carrier	-20°C	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	10 ml
RNase-free 吸附柱 RA 和收集管	室温	50 套

本试剂盒在室温储存 12 个月不影响使用效果。

储存事项:

1. 低温 (4°C 或者 -20°C) 会造成溶液沉淀, 影响使用效果, 运输和储存均在室温下 (15°C - 25°C) 进行。
2. 试剂长时间暴露于空气中会产生挥发、氧化、PH 值变化, 各溶液使用后应及时盖紧盖子。
3. Poly Carrier 常温运输, 4°C 可存放一个月, 长期保存置于 -20°C 保存。

产品介绍:

试剂盒采用特异性结合病毒 DNA/RNA 的吸附柱和独特的缓冲液系统, 适合从无细胞体液, 包括血浆、血清、腹水、培养细胞上清液、脑脊髓液及尿液等快速提取高纯病毒 DNA/RNA。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. 完全不使用有毒的苯酚, 氯仿等试剂, 也不需要乙醇沉淀等步骤。
2. 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, 可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 使用方法: 如果起始处理量很少, 我们推荐使用 Poly Carrier, 如果预期有较大量核酸产量, 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 4 μ l 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. 200 μ l 血清等体液 (温度需到室温, 不足可用 0.9% NaCl 或者 PBS 补足) 转入上述 1.5ml 离心管, 加入 400 μ l 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°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°C, 如果要长时间存放, 可以放置在 -20°C。病毒 RNA 建议最好立刻使用, 否则立刻短期放置在 -70°C 备用。