



北京博凌科为生物科技有限公司

Beijing BLKW Biotechnology Co., Ltd.

Tel: 010-57158602/52872342/80773165 (Fax)

[Http://www.blkwbio.com/](http://www.blkwbio.com/)

E-mail: blkwbio@blkwbio.com

- ◆ 病毒基因组DNA/RNA快速提取试剂盒 II
 - ◆ 目录号 1122
 - ◆ 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
裂解液 VLB	室温	20 ml
去蛋白液 RE	室温	25 ml
漂洗液 RW	室温	10 ml 第一次使用前按说明加指定量乙醇
RNase-free H ₂ O	室温	10 ml
RNase-free 吸附柱 RA 和收集管	室温	50 套

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。

❖ 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，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，可适用于各种常规操作，包括 PCR/RT-PCR、酶切、测序、Southern 杂交等。

❖ **操作步骤：（实验前请先阅读注意事项）**

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. 200 μ l 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 400 μ l 裂解液 VLB, **立刻涡旋振荡充分混匀**。
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 RE，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, 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. DNA 病毒可以存放在 2-8 $^{\circ}$ C, 如果要长时间存放, 可以放置在-20 $^{\circ}$ C。RNA 病毒建议最好立刻使用, 否则立刻短期放置在-70 $^{\circ}$ C 备用。