



Viral DNA/RNA Kit

病毒DNA/RNA提取试剂盒

目录号：CW0548S (50 preps)

保存条件：室温(15-30°C)

产品内容

Component	CW0548S 50 preps
Buffer GL	15 mL
Buffer GW1 (concentrate)	13 mL
Buffer GW2 (concentrate)	15 mL
Buffer RE	10 mL
Proteinase K	1.25mL
Spin Columns RS with Collection Tubes	50
RNase-Free Centrifuge Tubes (1.5 mL)	50

产品简介

本试剂盒适用于从新鲜或冷冻的血浆、血清和无细胞体液中提取病毒RNA和DNA。本品无需使用苯酚、氯仿等有机溶剂抽提，操作简单。本试剂盒采用独特的缓冲体系使裂解液中的病毒核酸高效特异地结合在硅胶质离心吸附柱上，PCR和酶反应的抑制剂以及残留的杂质可通过两步有效的漂洗步骤有效去除，最后使用低盐缓冲液或水洗脱，即可获得高纯度的病毒核酸。纯化的病毒核酸不含蛋白、核酸酶和其他杂质，可直接用于PCR、RT-PCR、Real-Time PCR、印迹实验等。

自备试剂

无水乙醇。

实验前准备及重要注意事项

1. Proteinase K请勿长时间室温放置，长期保存可置于-20℃，避免反复冻融，以免影响其活性。勿将Proteinase K直接加入到Buffer GL中。
2. 样品应避免反复冻融，否则会导致提取的DNA片段较小且提取量下降。
3. 血清或血浆避免反复冻融，反复冻融会导致蛋白变性或产生沉淀，减少病毒滴度进而影响提取病毒核酸的产量。
4. 第一次使用前应按照试剂瓶标签说明在Buffer GW1和Buffer GW2中加入无水乙醇。
5. 使用前请检查Buffer GL是否出现结晶或者沉淀，如有结晶或者沉淀，请将Buffer GL于56℃水浴重新溶解。

操作步骤

1. 取1.5mL离心管（自备），加入20 μL Proteinase K。
2. 向离心管中加入200 μL血清或血浆。加入200 μL Buffer GL，涡旋震荡15秒。
注意：1) 样本体积不足200 μL可以加入0.9% NaCl（自备）补足。
2) 为确保样本有效裂解，加入Buffer GL后，需将样本与Buffer GL充分混匀。
3. 56℃孵育15分钟，短暂离心，将管壁上的溶液收集到管底。

4. 加入250 μL 无水乙醇，涡旋震荡15秒，室温放置5分钟，短暂离心，将管壁上的溶液收集到管底。

注意：如果环境温度超过25 $^{\circ}\text{C}$ ，无水乙醇应在冰上预冷后使用。

5. 将步骤4中所得溶液加入到已装入收集管的吸附柱 (RNase-Free Columns RS) 中，若一次不能加完溶液，可分多次转入。12,000 rpm ($\sim 13,400\times g$) 离心1分钟，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。

6. 向吸附柱中加入500 μL Buffer GW1 (使用前检查是否已加入无水乙醇)，12,000 rpm离心1分钟，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。

7. 向吸附柱中加入500 μL Buffer GW2 (使用前检查是否已加入无水乙醇)，12,000 rpm离心1分钟，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。

注意：如需进一步提高DNA纯度，可重复步骤7。

8. 向吸附柱中加入500 μL 无水乙醇，12,000 rpm离心1分钟，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。

9. 12,000 rpm离心3分钟，倒掉收集管中的废液。将吸附柱置于室温数分钟，以彻底晾干。

注意：这一步的目的是吸附柱中残余的乙醇去除，乙醇残留会影响后续的酶促反应 (酶切、PCR等)。

10. 将吸附柱置于一个新的收集管 (RNase-Free Centrifuge Tube) 中，向吸附柱膜的中间部位悬空加入20-150 μL Buffer RE或灭菌水，室温放置2-5分钟，12,000 rpm离心1分钟，收集核酸溶液。

注意：1) 如果下游实验对pH值或EDTA敏感，可以用灭菌水洗脱。洗脱液的pH值对洗脱效率有很大影响，若用水做洗脱液应保证其pH值在7.0-8.5 (可以用NaOH将水的pH值调到此范围)，pH值低于7.0时洗脱效率不高。

2) 如需长期保存，请将DNA溶液置于-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存，RNA溶液置于-70 $^{\circ}\text{C}$ 保存。

3) 如果要提高DNA/RNA的终浓度，可以将步骤10所得的DNA/RNA洗脱液重新加至吸附膜上，重复步骤10。