

旋达[®]R1 核酸提取系列

病毒基因组 DNA/RNA 提取试剂盒

一、简介

病毒总核酸提取试剂盒适合于从血清、血浆、组织匀浆等样品中提取病毒总核酸。试剂盒基于硅胶柱纯化技术，提取过程中无需使用有毒的酚氯仿抽提，也无需进行耗时的醇类沉淀。该产品已经成功地提取了乙肝 A/C、丙肝以及诺如病毒等的核酸。获得的 DNA/RNA 可直接用于 PCR、RT-PCR、以及 LAMP 等系列下游实验。

二、组成

071091M	
成份	装量
提取次数	48 次
核酸吸附柱	48 个
2ml 收集管	48 个
Proteinase K	24 mg
Protease Dissolve Buffer	2 mL
Carrier RNA	250 µg
Buffer AL	20 mL
Buffer VHB	11 mL
Buffer RW2	20 mL
Nuclease Free Water	10 mL

注意：

1. Carrier RNA 固体使用前必须用 Nuclease Free Water 溶解至 1µg/µL，涡旋溶解。分装保存-70°C。如需长期保存于-20°C，请先按照使用次数分装后保存。
2. 溶解Proteinase K (20mg/mL)：加入Protease Dissolve Buffer 溶解Proteinase K 至终浓度为 20mg/mL。Proteinase K 干粉在 2-8°C 保存一年，但溶解的 Proteinase K 须分装保存 -20°C。反复冻融 Proteinase K 会影响其活性。
3. Buffer VHB 使用前必须用 14 mL 无水乙醇稀释，并于室温保存。
4. Buffer RW2 使用前必须用 80 mL 无水乙醇稀释，并于室温保存。

三、保质期

本产品除 Proteinase K 和 Carrier RNA 外，其它组份可在室温(15-25°C)保存 18 个月，长期保存时需置于 2-8°C。Proteinase K 和 Carrier RNA 干粉室温运输，收到试产品后请保存于 -20°C，溶解后分装保存于-20°C。

四、需要准备的材料和工具

- Buffer PBS
- 无水乙醇
- 洁净的镊子和剪刀
- 微量移液器 (100-1000µL, 10-100µL)
- 无RNA 酶的离心管和吸头
- 涡旋振荡器
- 离心机 (转速≥10,000 rpm)

五、实验步骤

1. 转移 20 μ L Proteinase K 至 1.5 mL 离心管中。

2. 转移 200 μ L 样品，如血清、血浆、尿液、培养液上清、或其它无细胞体液至装有 Proteinase K 的离心管中，振荡混匀 5 秒。若样品不足 200 μ L，用 Buffer PBS 或 Nuclease Free Water 补足。

(固体组织样品先用 Buffer PBS 浸泡或匀浆后，离心取上清进行操作；干粉样品请先用 Buffer PBS 充分溶解后离心取上清进行操作。)

3. 转移 200 μ L Buffer AL/Carrier RNA 至样品中，涡旋混匀 15 秒。

使用前，按每 1mL Buffer AL 加入 15 μ L Carrier RNA (1 μ g/ μ L)。该混合液室温可保存 2 天。

4. 56°C 水浴 10 分钟。

5. 加入 250 μ L 无水乙醇至裂解液中，涡旋混匀 15 秒。室温静置 3 分钟。

6. 把核酸吸附柱装在 2mL 收集管中。转移混合液至柱子中。8,000 g 离心 30-60 秒。

7. 倒弃滤液把柱子装回收集管中。加入 500 μ L Buffer VHB (已用无水乙醇稀释) 至柱子中。8,000 g 离心 30-60 秒。

使用前 Buffer VHB 必须按瓶子标签所示用无水乙醇稀释。

8. 倒弃滤液把柱子装回收集管中。加入 500 μ L Buffer RW2 (已用无水乙醇稀释) 至柱子中。8,000 g 离心 30-60 秒。

使用前 Buffer RW2 必须按瓶子标签所示用无水乙醇稀释。

9. 倒弃滤液把柱子装回收集管。加入 500 μ L Buffer RW2 (已用无水乙醇稀释) 至柱子中。8,000 g 离心 30-60 秒。

10. 倒弃滤液把柱子套回收集管。10,000 rpm 离心空甩 3 分钟甩干柱子。

11. 将柱子转移至新的 1.5mL 离心管。加入 100 μ L Nuclease Free Water 至柱子的膜中央。13,000 g 离心 1 分钟。

12. 弃去柱子，把 DNA/RNA 保存于 -80°C。

六、常见问题解答

1. 柱子堵塞

- **样品用量太多：**处理动物抗凝血液时，样品量控制在 100~150 μ L。尽量使用无细胞的样品，如血浆、血清、组织匀浆液的上清等。

- **Proteinase K 活性下降：**重新制备 Proteinase K。使用后 Proteinase K 必须保存于 -20°C。Proteinase K 与 Buffer AL 不能预先混合。

- **样品含固体颗粒：**在第 5 步加入乙醇前，10,000 g 离心 3 分钟去除未消化的杂质，转移上清液至新的离心管后再加入乙醇。

- **样品裂解不充分：**样品与 Buffer AL 混匀不充分。重新提取，加入 Buffer AL 后先颠倒混匀 3~5 次，然后以最高速度涡旋让样品与 Buffer AL 充分混匀。

2. 下游应用结果不理想

- **样品被反复解冻：**避免反复冻融样品。推荐使用新鲜样品或只解冻过一次的样品。

- **Nuclease Free Water 被污染：**更换新的 Nuclease Free Water 或 DEPC 处理水。

- **试剂准备有误：**按瓶子标签所示，加入合适体积的无水乙醇至 Buffer VHB 和 Buffer RW2 中。

- **Proteinase K 活性下降：**重新制备 Proteinase K。使用后 Proteinase K 必须立即保存于 -20°C。分装保存 Proteinase K，避免反复冻融。

- **乙醇残留：**柱子在洗脱前，需要空甩去除乙醇。对于敏感的应用，柱子在洗脱后，

打开柱子的盖子，放置 10~15 分钟让乙醇彻底挥发。

- **洗脱效率：**处理富含 DNA 的样品时，把 Nuclease Free Water 预热至 55°C 后再进行洗脱，有利于提高 DNA 得率。

七、生产企业

广州双螺旋基因技术有限公司

网址：www.dhelix.cn

电话：020-85671013

传真：020-34037175

地址：广州国际生物岛螺旋四路 7 号标准产业单元二期第三栋第三层 302 单元

