

病毒 DNA/RNA 提取试剂盒

项目号: V669947

储存条件: 室温。

产品内容

组分	50T
Buffer GL	15ml
Buffer GW1 (concentrate)	13ml
Buffer GW2 (concentrate)	15ml
Buffer RE	10ml
Proteinase K	12.5mg
Proteinase K Storage Buffer	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。

实验前及重要注意事项

1. 向 Proteinase K 中加入 1.25ml Proteinase K Storage Buffer 使其溶解, -20℃ 保存。配制好的 Proteinase K 勿长时间室温放置, 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 μ l Proteinase K。
2. 向离心管中加入 200 μ l 血清或血浆。加入 200 μ l Buffer GL，涡旋震荡 15 秒。
注意：1) 样本体积不足 200 μ l 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 μ l 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℃，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 μ l 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 μ l 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 μ l 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 μ l 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℃ 保存，RNA 溶液置于 -70℃ 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。