

GF-1 病毒核酸提取试剂盒说明书

版本 2.1

产品简介:

GF-1 病毒核酸提取试剂盒, 用于从血清, 血浆, 体液, 病毒感染细胞培养液等样品中, 快速有效提取病毒 DNA/RNA。试剂盒使用变性剂, 提供高效的病毒裂解, 使蛋白质变性释放 DNA 或者 RNA。试剂盒提供优化的特殊缓冲液, 增强 DNA 或 RNA 结合在经特殊处理的玻璃滤膜上, 能够有效回收高纯度的 DNA 或者 RNA。

试剂盒组成成份

	5 次	25 次	100 次	200 次
产品目录号	样品	CN/GF-RD-025	CN/GF-RD-100	CN/GF-RD-200
组份				
GF-1 亲和柱(GF-1 columns)	5	25	100	200
收集管 (Collection tubes)	5	25	100	200
缓冲液 VL (Buffer VL)	1.5ml	6ml	24ml	48ml
洗涤液 1 (浓缩液) *	1.5ml	7ml	28ml	2 x 28ml
WashBuffer1(concentrate)*				
洗涤液 2 (浓缩液) *	1.7ml	9ml	36ml	2 x 36ml
WashBuffer2(concentrate)*				
Carrier RNA*	0.3mg	0.5mg	2×1mg	4X1mg
洗脱液 (Elution Buffer)	1.5ml	2×1.5ml	20ml	40ml
蛋白酶 K* (Proteinase K*)	0.26ml	1.3ml	3×1.7ml	6 x 1.7ml
使用说明 (Handbook)	1	1	1	1

注意: 标*的请参照配制方案以及其储存条件和稳定性。

GF-1 病毒核酸提取试剂盒有 25 次、100 次、200 次包装。本试剂盒仅供研究使用。

自备材料

无水乙醇 (>95%)

配制方案

贴有洗涤液 1 和洗涤液 2 标签的浓缩液, 在使用前需用无水乙醇 (>95%) 稀释。

样品 (5 次):

在洗涤液 1 中加入 1.5ml 无水乙醇。

在洗涤液 2 中加入 4ml 无水乙醇。

在 Carrier RNA 中加入 0.3ml 洗脱液并充分混匀, 按 15 µl 每支分装, 避免反复冻融, -20℃ 保存。

CN/GF-RD-025 (25 次):

在洗涤液 1 中加入 7ml 无水乙醇。

在洗涤液 2 中加入 21ml 无水乙醇。

在 Carrier RNA 中加入 0.5ml 洗脱液溶解并充分混匀, 按 15 µl 每支分装, 避免反复冻融, -20℃ 保存。

CN/GF-RD-100 (100 次):

在洗涤液 1 中加入 28ml 无水乙醇。

在洗涤液 2 中加入 84ml 无水乙醇。

取一支 Carrier RNA, 加入 1ml 洗脱液溶解并充分混匀, 按 15 µl

每支分装, 避免反复冻融, -20℃ 保存。另一支下次使用前溶解, -20℃ 保存。

CN/GF-RD-200 (200 次):

在其中一瓶洗涤液 1 中加入 28ml 无水乙醇。使用完后再以同方式稀释第二瓶洗涤液 1。

在其中一瓶洗涤液 2 中加入 84ml 无水乙醇。使用完后再以同方式稀释第二瓶洗涤液 2。

取一支 Carrier RNA, 加入 1ml 洗脱液溶解并充分混匀, 按 15 µl 每支分装, 避免反复冻融, -20℃ 保存。剩余下次使用前溶解, -20℃ 保存。

洗涤液使用后拧紧瓶盖, 于室温保存。

储存及稳定性

● 所有溶液 20℃-30℃ 保存。

● 蛋白酶K和 Carrier RNA -20℃ 保存。

● 试剂盒各组份自生产之日起可稳定保存12个月。缓冲液 VL 和洗涤液 1 在室温过低时易出现结晶, 使用前请置于 55℃-65℃ 环境中至晶体完全溶解。

● Carrier RNA 解冻不能超过一次。用剩余的含有 Carrier RNA 的缓冲液 VL 需 4℃ 保存, 不能超过一周。

化学危害

缓冲液 VL 和洗涤液 1 含有胍盐, 当接触皮肤或吞服时可能造成危害。使用时一定要戴上手套并做好安全防护措施。不能将含有漂白剂或任何形式的酸性溶液加入到含有胍盐的提取废料中进行消毒。清洁沾染试剂的物品, 不需要用漂白剂和酸性溶液清洗, 只需浸泡在洗涤剂和水中即可除去胍盐。

操作步骤

提示

● 所有操作均在室温下进行, 除非另有说明。

● 洗涤液 1 和洗涤液 2 的浓缩液在使用前务必用无水乙醇稀释, 请参照配制方案。

● 如果缓冲液 VL 出现沉淀或结晶, 请置于 55℃-65℃ 环境中至晶体完全溶解。

● 预先设定 65℃ 水浴锅。

● 缓冲液 VL (含 Carrier RNA) 的配制, 将 15 µl Carrier RNA 加入至 200 µl 缓冲液 VL 中【一个样品所需的缓冲液 VL (含 Carrier RNA)】。

1、样品裂解

将 50 µl 蛋白酶 K 加入至 200 µl 样品中, 并充分混匀; 然后加入 215 µl 缓冲液 VL (含 Carrier RNA), 脉冲漩涡振荡混匀, 65℃ 温育 10 分钟。

2、加入无水乙醇

加入 280 µl 无水乙醇, 立即充分混匀。

注: 立即混匀以防止因局部高浓度乙醇引起的任何不均匀核酸沉淀。

3、装载到亲和柱

将样品转移到带有收集管的亲和柱中, 5,000 x g (8,000 rpm) 离心 1 分钟, 丢弃废液。

4、柱子洗涤 1

加入 500 µl 洗涤液 1 于亲和柱中, 5,000 x g (8,000 rpm) 离心 1

分钟，丢弃废液。

注：使用前确保洗涤液 1 已用无水乙醇稀释（参照配制方案）。

5、柱子洗涤 2

加入 500 μ l 洗涤液 2 于亲和柱中，5,000 x g (8,000 rpm) 离心 1 分钟，丢弃废液。重复洗涤一次，以最大转速离心 3 分钟，丢弃废液。

注：使用前确保洗涤液 2 已用无水乙醇稀释（参照配制方案）。

离心 3 分钟为了完全除去乙醇。

6、DNA 洗脱

将亲和柱放入另一干净的微量离心管中，加入 30-50 μ l 的洗脱液或无核酸酶的水于亲和柱的膜中央，室温静置 2 分钟，5,000 x g (8,000 rpm) 离心 1 分钟，以洗脱 DNA/RNA。

注：确保洗脱液被直接加入到膜中央进行洗脱。

DNA 4°C~-20°C 保存，RNA -20°C~-80°C 保存。

故障排除

不按照给定的说明进行操作将会出现不符合标准的结果，将影响 DNA/RNA 的得率和质量，如果出现此类问题，请参照以下内容处理：

问题	可能的原因	建议
DNA/RNA 得率低	样品不新鲜或未正确保存	样品解冻不超过一次。
	缓冲液 VL 中未加入 Carrier RNA	按规定在缓冲液 VL 中加入 Carrier RNA。
	Carrier RNA 质量低	确保 Carrier RNA 解冻不超过一次，请参照 储存及稳定性 ； 确保缓冲液 VL 中形成的沉淀物已被完全溶解。
	在样品裂解过程中的核酸酶抑制成效低	确保缓冲液 VL 与样品混合物和蛋白酶 K 均匀混合。
	样品裂解后未加入乙醇	使用新样品重新操作。
	洗涤液 1 和洗涤液 2 浓缩液未稀释	请参照“ 配制方案 ”。 重新提取新样品。
	加入洗脱液之前柱子不干	加入洗涤液 2 以后，确保柱子在最大速度下甩干 3 分钟。
洗脱的 DNA/RNA 在下游应用中性能差	RNA 降解	采样后的样品立即使用；如果保存后再使用，请确保在冰盒里解冻。
		使用一次性塑料耗材和吸头。
		确保在无 RNA 酶环境中操作。
	洗脱下来的 DNA/ RNA 含有残留乙醇	确保先进行柱子干燥步骤，再洗脱。

问题	可能的原因	建议
洗脱的 DNA/RNA 在下游应用中性能差	洗脱下来的 DNA/ RNA 浓度低	减少洗脱液的量，但是不能低于 30 μ l。
	加入的 Carrier RNA 的量不正确	可以补充加入正确量的 Carrier RNA。

上海凯斯泰尔生物科技有限公司

地址：上海市浦东新区康新公路 3377 号 2 号楼 604 室

电话：021-68060114

传真：021-68060114

邮箱：info@kestrel-china.com

网址：www.kestrel-china.com

Vivantis Technologies Sdn Bhd

1012 S.Coast Highway Suite 1,Oceanside CA 92054, USA.

Tel: +6 03 8025 1603

Fax: +6 03 8025 1637

Email: info@vivanttechnologies.com

international@vivanttechnologies.com

Web: www.vivanttechnologies.com