

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 $1\mu\text{g}/\mu\text{L}$ ，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 ($20\text{mg}/\text{mL}$)：加入Protease Dissolve Buffer 溶解Proteinase K 至终浓度为 $20\text{mg}/\text{mL}$ 。Proteinase K 干粉在 $2-8^{\circ}\text{C}$ 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($15-25^{\circ}\text{C}$)保存 18 个月，长期保存时需置于 $2-8^{\circ}\text{C}$ 。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 ($100-1000\mu\text{L}$, $10-100\mu\text{L}$)
- 无RNA 酶的离心管和吸头
- 涡旋振荡器
- 离心机 (转速 $\geq 10,000$ rpm)

五、实验步骤

1. 转移 $20\mu\text{L}$ Proteinase K 至 1.5mL 离心管中。

2. **转移 $200\mu\text{L}$ 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 $200\mu\text{L}$ ，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 $200\mu\text{L}$ Buffer AL/Carrier RNA 至样品中，涡旋混匀 15 秒。

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

4. 56°C 水浴 10 分钟。

5. 加入 $250\mu\text{L}$ 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。 $8,000\text{g}$ 离心 30-60 秒。

7. 倒弃滤液把柱子装回收集管中。加入 $500\mu\text{L}$ Buffer VHB (已用无水乙醇稀释) 至柱子中。 $8,000\text{g}$ 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 $500\mu\text{L}$ Buffer RW2 (已用无水乙醇稀释) 至柱子中。 $8,000\text{g}$ 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 $500\mu\text{L}$ Buffer RW2 (已用无水乙醇稀释) 至柱子中。 $8,000\text{g}$ 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