

SteadyPure 病毒DNA/RNA提取试剂盒

Code No. AG21021

SteadyPure Virus DNA/RNA Extraction Kit

包装量: 50 rxns
保存温度: Package 2-1 -20°C
 Package 2-2 室温(15-25°C)

产品概述

本产品采用高结合力的离心吸附柱和独特的病毒裂解系统，适用于从全血、血浆、血清、细胞培养液、病毒原液、感染病毒的组织和其他无细胞体液中提取病毒 (Virus) DNA/RNA。本产品具有收率高、操作简单、速度快等特点，同时配有 Carrier RNA，可保护微量的病毒 DNA/RNA 不被降解。经本产品提取得到的病毒 DNA/RNA 纯度高，质量稳定，可适用于各种分子生物学实验，包括酶切、PCR、文库构建、Southern杂交、芯片分析等。

安全操作

实验过程中可能会接触到强变性剂，实验操作开始前请穿戴合适的实验服、护目镜、口罩和手套，然后再进行实验操作。

【注意：实验过程中产生的废液需要收集在废液桶中专门处理。】

如果缓冲液不小心溅出，请立刻用大量清水冲洗，然后用浓度为1%的次氯酸钠溶液清洗。

详细信息请参考相关 MSDS 信息。

产品组成

Proteinase K (20 mg / ml) *1	1 ml
Carrier RNA (6 μg / μl) *1	50 μl
Buffer VLS	13 ml
Buffer RWA	25 ml
Buffer RWB*2	27 ml
RNase Free Water*3	13 ml
Virus DNA/RNA Mini Columns	50 sets
Collection tubes	50 pcs
RNase Free Tubes*4	50 pcs

*1: 此两种组分包装于 Package 2-1中，需放置于 -20°C 保存；其余组分均包装于 Package 2-2 中，室温(15-25°C) 保存。

*2: Buffer RWB 在首次使用前，请添加 63 ml 的 100% 乙醇 (Buffer RWB 与无水乙醇体积比为 3 : 7)，混合均匀后在瓶子上做好标记，室温下保存。

*3: 开启后建议保存于-20°C。

*4: 此组分仅用于洗脱 DNA/RNA，前期裂解所用离心管需自备。

实验前准备

1. 自备：无水乙醇、灭菌水 (或 PBS 或 0.9% NaCl 水溶液)、1.5 ml 离心管(RNase free)、水浴锅。
2. Buffer RWB 在首次使用前，请添加 63 ml 的 100% 乙醇 (Buffer RWB 与无水乙醇体积比为 3 : 7)，混合均匀后在瓶子上做好标记，室温下保存。

保存及运输

保存温度: Package 2-1 -20°C 保存
 Package 2-2 室温 (15-25°C) 保存

运输温度: Package 2-1 干冰或-20°C冰袋运输
 Package 2-2 室温运输

► 注意事项

1. 应尽量使用新鲜的实验材料，以确保提取的 DNA/RNA 不被降解。
2. 使用液氮研磨组织材料时，应随时加入液氮，以确保提取的 DNA/RNA 不被降解。
3. 样本量切勿超过最大起始量，否则会堵塞 Mini Column，影响 DNA/RNA 收量及纯度。
4. 提取全血及组织等含细胞的样本时，裂解过程中会释放部分细胞 DNA/RNA，后续检测设计引物时应避免同源性。
5. 实验过程中应竖直将吸附柱取出，避免吸附柱柱头触碰收集管壁。
6. Carrier RNA 的使用：
 - ① Carrier RNA 可保护微量的核酸不被降解，从而提高病毒 DNA/RNA 的收量。使用时请按照下述“病毒的裂解”步骤2 中比例添加，如需扩大裂解体系时，请按相同倍数增加 Carrier RNA 使用量。
 - ② Carrier RNA 为大肠杆菌来源的RNA，后续检测设计引物时应避免同源性，如果检测基因与Carrier RNA 同源，可能会产出假阳性（假阳性判断标准：在提取过程中，不添加检测样品，使用灭菌水替代样品提取后，经过PCR反应也得到明显扩增）。
 - ③ Carrier RNA 检测出现假阳性，可重新设计引物，或选择不使用 Carrier RNA。如果不使用 Carrier RNA 可能会导致微量病毒 DNA/RNA 的收量降低。
 - ④ 病毒 DNA/RNA 的检测可以通过PCR、RT-PCR、qPCR进行检测。

► 操作流程

病毒的裂解：不同的实验材料需采用不同的裂解步骤，具体说明如下：

◆ 血浆、血清、唾液、病毒原液或其他无细胞液体中病毒的裂解：

1. 转移 10 ~ 200 μ l 的血浆、血清、唾液、病毒原液或其他无细胞液体至 1.5 ml 离心管中。（注：如果起始量小于 200 μ l，可用 PBS 溶液、灭菌水或 0.9% NaCl 水溶液补足至 200 μ l。）
2. 加入 250 μ l 的 Buffer VLS、20 μ l 的 Proteinase K 和 1.0 μ l 的 Carrier RNA，涡旋振荡使其充分混匀，56°C 孵育 15 分钟。
3. 向上述裂解液中加入 250 μ l 无水乙醇，充分吸打混匀。



样本的裂解处理

200 μ l 样品
250 μ l Buffer VLS
20 μ l Proteinase K
1.0 μ l Carrier RNA
56°C 孵育 15 min
250 μ l 无水乙醇

◆ 血液中病毒的裂解：

1. 转移 10 ~ 100 μ l 的全血至 1.5ml 离心管中，用 PBS 溶液、灭菌水 或 0.9% NaCl 水溶液补足至 200 μ l。
2. 加入 250 μ l 的 Buffer VLS、20 μ l 的 Proteinase K 和 1.0 μ l 的 Carrier RNA，涡旋振荡使其充分混匀，56°C 孵育 15 分钟。
3. 裂解后 12,000 rpm 室温离心 3 分钟，将上清转移至新的 1.5ml 离心管中。
4. 向上清中加入 250 μ l 无水乙醇，充分吸打混匀。

◆ 感染病毒的组织裂解：

1. 取 2 ~ 10 mg 感染病毒的组织进行液氮研磨，向研磨后的组织中加入 200 μ l PBS 溶液、灭菌水 或 0.9% NaCl 水溶液，将上述含有病毒组织的匀浆液转移至 1.5 ml 离心管中。（注：也可使用匀浆器研磨组织。向匀浆器中加入 200 μ l PBS 溶液，取 2 ~ 10 mg 感染病毒的组织加入至含有 PBS 溶液的匀浆器中，匀浆至无明显块状组织后，转移 200 μ l 匀浆液至 1.5 ml 离心管中，若匀浆液不足 200 μ l，使用 PBS 溶液补足至 200 μ l。）
2. 立即加入 250 μ l 的 Buffer VLS、20 μ l 的 Proteinase K 和 1.0 μ l 的 Carrier RNA，涡旋振荡使其充分混匀，56°C 孵育 15 分钟。
3. 裂解后 12,000 rpm 室温离心 3 分钟，将上清转移至新的 1.5ml 离心管中。
4. 向上清中加入 250 μ l 无水乙醇，充分吸打混匀。

操作流程

纯化步骤：

1. 将上述溶液转移至 *Virus DNA/RNA* Mini Column 中，室温静置 2 min 后，室温下 12,000 rpm 离心 2 分钟，弃滤液。（注：如果吸附柱中的液体未能全部离心至收集管中，请加大转速、延长离心时间至液体完全转移到收集管中。）
2. 向 Mini Column 中加入 500 μ l 的 Buffer RWA，室温 12,000 rpm 离心 1 分钟，弃滤液。
3. 向 Mini Column 中加入 750 μ l 的 Buffer RWB，室温 12,000 rpm 离心 1 分钟，弃滤液。（注：请确认 Buffer RWB 中已经加入了指定体积的 100%乙醇。）
4. 重复操作步骤 3。
5. 将 Mini Column 安置于新的 2.0 ml Collection Tube 上，室温 12,000 rpm 离心 2 分钟。（注：安装于新的 2.0 ml Collection Tube 上有利于提高 RNA 纯度。）
6. 将 Mini Column 安置于新的 1.5 ml 的离心管上，在 Mini Column 膜的中央处加入 20 ~ 100 μ l RNase Free Water，室温静置 5 分钟，然后室温 12,000 rpm 离心 2 分钟洗脱得到病毒 DNA/RNA 溶液，可用于后续实验。



Mini Column 吸附DNA/RNA
500 μ l Buffer RWA洗1次
750 μ l Buffer RWB洗2次



20 μ l - 100 μ l
RNase Free Water洗脱

