

五、操作步骤

* 第一次使用前请先在漂洗液 RW 中加入指定量无水乙醇!

1. 取 1ml 含病毒的液体 (血清、血浆、全血等), 放入 15ml 离心管。
对如果液体起始量小于 1ml, 则用缓冲液 VB 补足到 1ml。
2. 加入 1ml 结合液 CB, 振荡 60 秒, 充分混匀, 再加入 100 μ l 蛋白酶 K (20mg/ml) 溶液, 颠倒混匀, 72 $^{\circ}$ C 水浴 15-30 分钟, 溶液应清亮。
3. 冷却至室温, 加入 500 μ l 异丙醇, 剧烈颠倒轻摇, 充分混匀, 此时可能会出现絮状沉淀。对于微量的起始样品, 请加入 20 μ l 的 Carrier。
4. 将上一步所得溶液和可能的絮状沉淀都加入一个吸附柱 AC 中, (吸附柱放入收集管中) 4, 000g 离心五分钟, 将吸附柱上的小柱子取下 (用镊子夹掉底部的两个卡子, 即可取下小柱子), 放入新的收集管 B 中, 继续离心 13, 000rpm, 1 分钟, 弃废液。
5. 加入 500 μ l 抑制物去除液 IR, 12, 000 rpm 离心 30 秒, 弃废液。
6. 加入 700 μ l 漂洗液 RW (请先检查是否已加入无水乙醇!), 12, 000 rpm 离心 30 秒, 弃掉废液。
7. 加入 500 μ l 漂洗液 RW, 12, 000 rpm 离心 30 秒, 弃掉废液。
8. 将吸附柱 AC 放回空收集管中, 13, 000 rpm 离心 2 分钟, 尽量除去漂洗液, 以免漂洗液中残留乙醇抑制下游反应。
9. 取出吸附柱 AC, 放入一个干净的离心管中, 在吸附膜的中间部位加 15-50 μ l 洗脱缓冲液 EB (洗脱缓冲液事先在 65-70 $^{\circ}$ C 水浴中预热), 室温放置 2-5 分钟, 12, 000 rpm 离心 1 分钟。将得到的溶液重新加入离心吸附柱中, 室温放置 2 分钟, 12, 000 rpm 离心 1 分钟。

DNA 可以存放在 2-8 $^{\circ}$ C, 如果要长时间存放, 可以放置在 -20 $^{\circ}$ C。

一般实验室使用, 仅用于 *体外*

病毒基因组 DNA/RNA 大量提取试剂盒 (离心柱型)

用于快速提取病毒基因组 DNA/RNA

目录号: DP5211 (10次)

使用手册

2011年9月, 第3版



北京百泰克生物技术有限公司

Biotek Corporation

一、试剂盒组成、储存、稳定性

试剂盒组成	保存	10次 (DP5211)
缓冲液 VB	室温	10 ml
结合液 CB	室温	10 ml
Carrier	室温	200ul
抑制物去除液 IR	室温	5ml
漂洗液 RW	4℃ (一个月)	6 ml
	-20℃ (长期)	
洗脱缓冲液 EB	室温	15 ml
异丙醇	室温	5 ml
蛋白酶 K (20mg/ml)	-20℃	20mg 冻干粉
微量吸附柱	室温	10
收集管 (50ml)	室温	10
收集管 B(2ml)	室温	10

本试剂盒在室温储存 12 个月不影响使用效果。

注意事项

1. 第一次使用前请先在漂洗液 RW 中加入指定量乙醇(6ml RW 瓶加 24 毫升,)，充分混匀，加入后请及时在方框打钩标记已加入乙醇，以免多次加入!
2. 结合液 CB 或者抑制物去除液 IR 低温时可能出现析出和沉淀，可以在 37℃ 水浴几分钟帮助重新溶解，恢复澄清透明后冷却到室温即可使用。
3. 为避免降低活性，方便运输，提供蛋白酶 K 为冻干粉状，收到后，可短暂离心后，加入 400 微升或者 1 毫升灭菌水溶解(20mg/ml 终浓度)。因为反复冻融可能会降低酶活性，因此溶解后立即按照每次使用量(20 微升)分装冻存，-20℃ 保存。
4. 避免试剂长时间暴露于空气中发生挥发、氧化、PH 值变化，各溶液使用后应及时盖紧盖子。

二、原理简介

独特的结合液/蛋白酶 K 迅速裂解病毒和灭活病毒内核酸酶，然后基因组 DNA 在高离序盐状态下选择性吸附于离心柱内硅基质膜，再通过一系列快速的漂洗—离心的步骤，抑制物去除液和漂洗液将细胞代谢物、蛋白等杂质去除，最后低盐的洗脱缓冲液将纯净基因组 DNA 从硅基质膜上洗脱。

三、试剂盒特点

1. 不需要使用有毒的苯酚等试剂，也不需要乙醇沉淀等步骤。
2. 快速，简捷，单个样品操作一般可在 20 分钟内完成。
3. 多次柱漂洗确保高纯度，无抑制性杂质。
4. 本试剂盒用于从新鲜或者冷冻的血浆、血清、全血和其它无细胞体液等样品中提取病毒基因组 DNA，冷冻样品不要反复冻融。所得样品可以直接用于 PCR、酶切、杂交等分子生物学实验。

四、注意事项（实验前必须首先阅读这部分!）

1. 所有的离心步骤均在室温完成，使用转速可以达到13,000 rpm的传统台式离心机，如Eppendorf 5415C 或者类似离心机。
2. 开始实验前将需要的水浴先预热到 70℃ 备用。
3. 为了最佳效果，最好使用新鲜液体标本并且避免反复冻融，否则会使提取片段较小并严重降低产量。