

版本号: DP140916

TIANamp Virus DNA/RNA Kit

病毒基因组DNA/RNA提取试剂盒

离心柱型

目录号 DP315

产品内容

产品组成	DP315 (50 preps)
缓冲液GB Buffer GB	15 ml
缓冲液GD Buffer GD	13 ml
漂洗液PW Buffer PW	15 ml
RNase-Free ddH ₂ O 瓶装	15 ml
Proteinase K	1 ml
Carrier RNA	310 µg
RNase-Free ddH ₂ O 管装	1 ml
RNase-Free吸附柱CR2 含2 ml收集管 (RNase-Free Spin Column CR2 in a 2 ml Collection Tube)	50 套
RNase-Free离心管 1.5 ml	50个
RNase-Free Centrifuge Tubes 1.5 ml	

储存条件

该试剂盒置于室温 15-25°C 干燥条件下 可保存12个月 更长时间的保存可置于 2-8°C 2-8°C保存条件下 若溶液产生沉淀 使用前应将试剂盒内的溶液在室温放置一段时间 必要时可在37°C水浴中预热10 min 以溶解沉淀 Carrier RNA配置成储液后置于-20°C

产品简介

本试剂盒采用可以特异性结合病毒DNA/RNA的离心吸附柱和独特的缓冲液系统 适用于从200 μ l血浆/血清/淋巴液中提取病毒的DNA/RNA 该试剂盒配备了Carrier RNA用于充分收集微量DNA/RNA 离心吸附柱中采用的硅基质材料为本公司特有新型材料 高效 专一吸附DNA/RNA 可最大限度去除杂质蛋白等 提取的病毒DNA/RNA纯度高 质量稳定可靠 可适用于各种常规操作 包括酶切 PCR 文库构建 Southern杂交等实验

注意事项 请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项

1. 所有的离心步骤均在室温下进行 15-25 $^{\circ}$ C
2. 将样品平衡至室温
3. 试剂盒中提供的RNase-Free离心管 1.5 ml 供第13步洗脱步骤使用 其余离心管需自备

Carrier RNA溶液的配制如下

- 向装有310 μ g Carrier RNA冻干粉的管子中加入310 μ l RNase-Free ddH₂O 将Carrier RNA彻底溶解 得到终浓度为1 μ g/ μ l的溶液 并按实验情况分装到RNase-Free的离心管中 置于-20 $^{\circ}$ C储存 使用时按照提取的次数取出相应的溶液 该溶液应避免反复冻融 冻融次数不能超过3次
- 注意Carrier RNA冻干粉不能直接溶解于缓冲液GB中 必须先溶解在RNase-Free ddH₂O中 再溶解至缓冲液GB中
- **Carrier RNA工作液 根据样品的数量计算所需缓冲液GB和Carrier RNA溶液的体积 见表1或使用以下公式计算** 将缓冲液GB与Carrier RNA溶液颠倒混匀 即得到Carrier RNA工作液 为避免溶液出现起泡现象 请勿使用涡旋振荡

如果需要提取大量的样品 可根据以下公式计算

$$n \times 0.22 \text{ ml} = y \text{ ml}$$

$$y \text{ ml} \times 28 \text{ } \mu\text{l/ml} = z \text{ } \mu\text{l}$$

n=同时提取的样品个数 y=需要加入缓冲液GB的体积 z=需要加入Carrier RNA溶液的体积

表1 步骤3中Carrier RNA工作液的配制

样品个数	GB(ml)	Carrier RNA水溶液(μl)	样品个数	GB(ml)	Carrier RNA水溶液(μl)
1	0.22	6.2	13	2.86	80.1
2	0.44	12.3	14	3.08	86.3
3	0.66	18.5	15	3.30	92.4
4	0.88	24.6	16	3.52	98.6
5	1.10	30.8	17	3.74	104.7
6	1.32	37.0	18	3.96	110.9
7	1.54	43.1	19	4.18	117.0
8	1.76	49.3	20	4.40	123.2
9	1.98	55.4	21	4.62	129.4
10	2.20	61.6	22	4.84	135.5
11	2.42	67.8	23	5.06	141.7
12	2.64	73.9	24	5.28	147.8

注意 请将缓冲液GB与Carrier RNA溶液颠倒混匀 即得到Carrier RNA工作液 为避免溶液出现起泡现象 请勿使用涡旋振荡

操作步骤

使用前请先在缓冲液GD和漂洗液PW中加入无水乙醇 加入体积请参照瓶上的标签

1. 用移液器将20 μl Proteinase K加入一个干净的1.5 ml离心管中
2. 向离心管中加入200 μl血浆/血清/淋巴液 样品需平衡至室温

注意 如果样本体积小于200 μl 可加入0.9% NaCl溶液补充

3. 加入200 μl Carrier RNA工作液 为缓冲液GB与Carrier RNA溶液的混合液 配制方法如表1或按照公式计算 盖上管盖 涡旋振荡15 sec混匀

注意 为了保证裂解充分 样品和Carrier RNA工作液需要彻底混匀

4. 在56°C 孵育15 min 简短离心以收集附着在管壁及管盖的液体

5. 加入250 μ l无水乙醇 此时可能会出现絮状沉淀 盖上管盖并涡旋振荡15 sec 彻底混匀 在室温 15-25 $^{\circ}$ C 放置5 min

注意 如果周围环境高于25 $^{\circ}$ C, 乙醇需要再在冰上预冷后再加入

6. 简短离心以收集附着在管壁及管盖的液体

7. 仔细将离心管中的溶液和絮状沉淀全部转移至RNase-Free吸附柱CR2 吸附柱放在收集管中 盖上管盖 8,000 rpm (~6,000 \times g) 离心1 min 弃废液 将吸附柱放回收集管中

注意 如果吸附柱上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

8. 小心打开吸附柱盖子 加入500 μ l溶液GD 使用前请先检查是否已加入无水乙醇 盖上管盖 8,000 rpm (~6,000 \times g)离心1 min 弃废液 将吸附柱放回收集管

9. 小心打开吸附柱盖子 加入600 μ l溶液PW 使用前请先检查是否已加入无水乙醇 盖上管盖 静置2 min 8,000 rpm (~6,000 \times g)离心1 min 弃废液 将吸附柱放回收集管

10. 重复步骤9

11. 小心打开吸附柱盖子 加入500 μ l无水乙醇 盖上管盖 8,000 rpm (~6,000 \times g)离心1 min 弃废液

注意 乙醇的残留可能会对后续实验造成影响

12. 将吸附柱放回收集管中 12,000 rpm (~13,400 \times g)离心3 min 使吸附膜完全变干 弃废液

13. 将吸附柱放入一个RNase-Free离心管 1.5 ml 中 小心打开吸附柱的盖子 室温放置3 min 使吸附膜完全变干 向吸附膜的中间部位悬空滴加20-150 μ l RNase-Free ddH₂O 盖上盖子 室温放置5 min 12,000 rpm (~13,400 \times g)离心1 min

注意 确保洗脱液 RNase-Free ddH₂O 在室温平衡后再使用 如果加入洗脱液的体积很小(小于50 μ l) 为了将膜上的DNA/RNA充分洗脱下来 应注意将洗脱液加到膜的中央位置 洗脱体积可以根据后续的实验要求灵活处理
