

## Viral DNA/RNA Extraction Rapid Kit B

### 病毒 DNA/RNA 快速提取试剂盒 B

本产品适合于从无细胞液体样品中提取病毒 DNA 及 RNA。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，整个提取过程只需 20 分钟。得到的 DNA/RNA 可直接用于 PCR，荧光定量，病毒检测等实验。

#### 产品组份

产品编号	RNV491-01B	RNV491-02B	RNV491-03B
纯化次数	10 次	50 次	250 次
viral Extraction Micro Columns	10	50	250
2ml Collection Tubes	10	50	250
Buffer RPL	8 ml	30ml	150 ml
Proteinase K	220 $\mu$ l	1.1 ml	5.5 ml
Buffer W1A	4.4 ml	13 ml	66 ml
Buffer W2R	5 ml	20 ml	2 $\times$ 50 ml
Nuclease Free Water	1.5 ml	10 ml	30 ml

#### 保存条件

本产品除可在室温(15~25℃)保存 12 个月。低温下，Buffer RPL 可能会有沉淀形成，需 55℃ 水浴让沉淀完全溶解。

## 准备事项

- Buffer W1A 使用前，须按瓶子标签所示，加入无水乙醇进行稀释。
- Buffer W2R 使用前，须按瓶子标签所示，加入无水乙醇进行稀释。

## 实验步骤

1. 转移 200 $\mu$ l 样品，如血清、血浆、尿液、培养液上清、组织匀浆液上清或其它无细胞体液至 1.5ml 离心管中。（若样品不足 200 $\mu$ l，用 PBS 补足）
2. 加入 20 $\mu$ l Proteinase K 及 500 $\mu$ l Buffer RPL 至样品中，涡旋混匀 30 秒，室温静置 10 分钟，期间颠倒混匀数次。（由于样品及裂解液均为粘稠液体，需要充分颠倒三四次后再进行涡旋才可使液体混成均一相，涡旋时应产生涡流现象）
3. 把 Viral Extraction Micro Column 装在 2ml 收集管中。转移混合液至柱子中。10,000  $\times$  g 离心 10 秒。（若样品较为复杂，延长时至 60 秒使溶液充分过柱）
4. 倒弃滤液把柱子装回收集管中。加入 500 $\mu$ l Buffer W1A(已用无水乙醇稀释) 至柱子中。10,000  $\times$  g 离心 10 秒。
5. 倒弃滤液把柱子装回收集管中。加入 500 $\mu$ l Buffer W2R(已用无水乙醇稀释) 至柱子中。10,000  $\times$  g 离心 10 秒。
6. 倒弃滤液把柱子装回收集管。加入 500 $\mu$ l Buffer W2R(已用无水乙醇稀释) 至柱子中。10,000 $\times$ g 离心 10 秒。
7. 倒弃滤液把柱子套回收集管。13,000  $\times$  g 离心空柱 3 分钟甩干柱子。
8. 将柱子转移至新的 1.5ml 离心管。加入 60~100 $\mu$ l Nuclease Free Water 至柱子的膜中央。13,000  $\times$  g 离心 1 分钟。（室温静置 2 分钟后离心可提高洗脱效率）
9. 弃去柱子，把 DNA/RNA 进行下游实验或保存于-80 $^{\circ}$ C 待用。

## 常见问题

### 1. 柱子堵塞

- **样品用量太多:** 减少样品量。处理含细胞样品时, 最好采用 50~100 $\mu$ l 样品量, 尽量使用无细胞样品。
- **样品裂解不充分:** 样品与 Buffer RPL 混匀不充分。重新提取, 加入 Buffer RPL 后先颠倒混匀 3~5 次, 然后以最高速度涡旋让样品与 Buffer RPL 充分混匀。
- **消化液存在不溶解的物质:** 若样品消化后仍存在明显的颗粒, 于 12,000 x g 离心 3 分钟去除未消化的物质。

### 2. DNA/RNA 产量低

- 无细胞样品不能采用紫外光度方法及电泳方法进行浓度测定, 直接进入下游实验, 如需进行浓度测定, 需要采用 Life Science 的 Qubit2.0~3.0 进行定量。

### 3. 下游结果不理想

- **Nuclease Free Water** 存在污染风险, 尽量进行分装使用。
- **乙醇残留:** 对于敏感应用, 可在空甩后打开盖子晾干 10 分钟后进行洗脱。
- **洗脱不充分:** 可将洗脱液预热至 60 $^{\circ}$ C 后再进行洗脱, 并且于洗脱时室温静置 2 分钟, 提高洗脱效率。