

Viral DNA/RNA Extraction Mini Kit

病毒 DNA/RNA 小量提取试剂盒

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 30~60 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	RNV492-01	RNV492-02	RNV492-03
纯化次数	10 次	50 次	250 次
viral Extraction Micro Columns	10	50	250
2ml Collection Tubes	10	50	250
Buffer VAL	3 ml	20 ml	80 ml
Buffer W1A	4.4 ml	13 ml	66 ml
Buffer W2R	5 ml	20 ml	2×50 ml
Binding Enhancer	110 µg	110 µg	110 ug
Proteinase K	0.22 ml	1.1ml	5.5ml
Nuclease Free Water	2 ml	10 ml	30 ml

保存条件

本产品除 Binding Enhancer 外，可在室温(15~25℃)保存 12 个月，长期保存时需置于 2-8℃。低温下，Buffer VAL 可能会有沉淀形成，需 55℃水浴让沉淀完全溶解。Binding Enhancer 室温运输，收到产品后请保存于-20~8℃。

准备事项

- 55℃和 70℃水浴锅
- Binding Enhancer 固体使用前必须用 Nuclease Free Water 溶解至 200ng/μl，涡旋溶解。建议分装 100ul 每管保存至-20℃。
- 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 μ l 样品，如血清、血浆、尿液、培养液上清、或其它无细胞体液至 1.5ml 离心管中。（若样品不足 200 μ l，用 PBS 补足）
2. 加入 20 μ l Proteinase K， 200 μ l Buffer VAL 及 2 μ l Binding Enhancer 至样品中，涡旋混匀 15 秒。（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. 60 $^{\circ}$ C 水浴 10 分钟。
4. 加入 250 μ l 无水乙醇至裂解液中，颠倒 3~4 次后涡旋混匀 15 秒。室温静置 3 分钟。
5. 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）
6. 倒弃滤液把柱子装回收集管中。加入 500 μ l Buffer W1A(已用无水乙醇稀释) 至柱子中。10,000 \times g 离心 10 秒。
7. 倒弃滤液把柱子装回收集管中。加入 500 μ l Buffer W2R(已用无水乙醇稀释) 至柱子中。10,000 \times g 离心 10 秒。
8. 倒弃滤液把柱子装回收集管。加入 500 μ l Buffer W2R(已用无水乙醇稀释) 至柱子中。10,000 \times g 离心 10 秒。
9. 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。
10. 将柱子转移至新的 1.5ml 离心管。加入 60~100 μ l Nuclease Free Water 至柱子的膜中央。13,000 \times g 离心 1 分钟。
11. 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 μ l 样品量, 尽量使用无细胞样品。
- **样品裂解不充分:** 样品与 Buffer VAL 混匀不充分。重新提取, 加入 Buffer VAL 后先颠倒混匀 3~5 次, 然后以最高速度涡旋让样品与 Buffer VAL 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, 并于洗脱时室温静置 2 分钟提高洗脱效率。