

病毒基因组 RNA/DNA 提取试剂盒（离心柱型）

货号: NG3011S 50 次

NG3011M 100 次

试剂盒组成	保存	50 次	100 次
缓冲液 VL	室温	15 ml	30 ml
缓冲液 RE	室温	25 ml	50 ml
核酸助沉剂 (Carrier)	-20°C	200 ul	400 ul
蛋白酶 K (20mg/ml)	-20°C	1 ml	2 ml
漂洗液 RW	室温	15 ml	25 ml
		第一次使用前按说明加指定量乙醇	
洗脱缓冲液 EB	室温	8ml	15 ml
微量吸附柱 RD	室温	50 个	100 个
收集管 (2ml)	室温	50 个	100 个

储存事项:

1. 缓冲液 VL, 低温时可能出现析出和沉淀, 可以在 37°C 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。
2. 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。

产品介绍:

独特的缓冲液迅速裂解细胞和灭活细胞内核酸酶, 然后基因组 RNA/DNA 在高离子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, 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 RNA/DNA 从硅基质膜上洗脱。

产品特点:

1. 快速, 简捷, 单个样品操作一般可在 20 分钟内完成。
2. 多次柱漂洗确保高纯度。

注意事项:

1. 所有的离心步骤均在室温完成。
2. 不同样品中白细胞数量差异可能非常大, 因此产量的个体差异也可能非常大。
3. 需要水浴先预热到 56°C 备用。
4. 为了最佳效果, 最好使用新鲜样品。
5. 洗脱液 EB 不含有螯合剂 EDTA, 不影响下游酶切、连接等反应。也可以使用水洗脱, 但应该确保 pH 大于 7.5, pH 过低影响洗脱效率。用水洗脱 DNA 应该保存在 -20°C。DNA 如果需要长期保存, 可以用 TE 缓冲液洗脱 (10mM Tris-HCl, 1mM EDTA, pH 8.0), 但是 EDTA 可能下游酶切反应, 使用时可以适当稀释。

操作步骤: (实验前请先阅读注意事项)

提示: 第一次使用前请先在漂洗液 RW 中加入指定量无水乙醇, 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!

- a. 血液病毒样品: 转移 10~100μl 的全血至 1.5ml 离心管中, 用 PBS 溶液补足至 200μl。
- b. 含有病毒的组织样品: 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 200μl PBS 溶液。
 1. 加入 250μl 缓冲液 VL, 加入 20ul 蛋白酶 K, 3ul Carrier, 充分混匀, 56°C 孵育 15 分钟。
 2. 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。
 3. 向上清液中加入 250 μl 无水乙醇, 充分吸打混匀。
 4. 将上一步混合物 (包括可能有的沉淀) 加入一个微量吸附柱 RD 中, (吸附柱放入收集管中), 室温静置 2min, 13,000 rpm 离心 30-60 秒, 倒掉收集管中的废液。
 1. 加入 500μl 缓冲液 RE, 12,000 rpm 离心 30 秒, 弃废液。



2. 加入 600 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, 弃废液。
3. 加入 600 μ l 漂洗液 RW, 12,000 rpm 离心 30 秒, 弃废液。
4. 将微量吸附柱 RD 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。
5. 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 15-30 μ l 洗脱缓冲液 EB (洗脱缓冲液事先在 65-70 $^{\circ}$ C 水浴中预热效果更好), 室温放置 3-5 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。

洗脱体积越大, 洗脱效率越高, 如果需要 DNA 浓度较高, 可以适当减少洗脱体积, 但是最小体积不应少于 10 μ l, 体积过小降低 DNA 洗脱效率, 减少 DNA 产量。

