

病毒核酸试剂盒说明书

产品组成

病毒核酸试剂盒	5 次样品	50 次制备	250 次制备
Cat. No.	4002005	4002050	4002250
核酸纯化柱	5 个	50 个	250 个
2 ml 收集管	5 个	50 个	250 个
RNase-free 1.5 ml 收集管	5 个	50 个	250 个
蛋白酶 K 贮存液	120 μ l	1.2 ml	1.2 ml \times 5
Carrier RNA	40 μ l	400 μ l	400 μ l \times 5
Buffer VL	1.5 ml	15 ml	75 ml
Buffer WBR (浓缩液)	1.5 ml	6.5 ml \times 2	32 ml \times 2
Buffer TE	0.5 ml	5 ml	25 ml
说明书	1 份	1 份	1 份

产品储存

蛋白酶 K 贮存液和 Carrier RNA 请置于 -20 $^{\circ}$ C 贮存，其他试剂与物品储存于常温 (0~30 $^{\circ}$ C)，可在两年内保持使用性能无明显变化。

技术支持

杭州新景生物试剂开发有限公司研发部：e-mail: technical@simgen.cn, 电话：400-0099-857。

产品介绍

本产品适合从血浆、无细胞体液（包括血浆、血清、尿液、脑脊液及细胞培养上清）、病毒原液和感染病毒的组织中提取各种病毒 RNA 或病毒 DNA。用本试剂盒最高可从病毒拷贝数为 50 copies/ml 的体液样本（DNA 病毒）中检测到病毒核酸。与传统的煮沸法提取病毒 DNA 相比，检测灵敏度可提高 10-50 倍；与传统 Trizol 法提取病毒 RNA 相比，检测灵敏度可提高 5-10 倍。被溶解的病毒中的核酸结合到纯化柱上后，Buffer WBR 洗涤去除残留在纯化柱上的 PCR 抑制物，然后用 Buffer TE 洗脱，即可用于 PCR 或 RT-PCR 反应。

用户需自备的试剂与物品

1. 无水乙醇
2. 1.5 ml 离心管(推荐选用 DNase-free & RNase-free 的 1.5 ml 离心管)
3. 移液器及吸头（为避免样本间的交叉污染，请选用含有滤芯的 DNase-free & RNase-free 移液器吸头）
4. 一次性手套及防护用品和纸巾
5. 台式少量离心机（可配离心 1.5 ml 离心管和 2 ml 离心管的转子）
6. 水浴锅与旋涡振荡器
7. 可能需要 PBS 溶液或生理盐水



扫二维码观看操作视频

使用前准备

1. 如果离心机有制冷功能，请将温度设置到 25 $^{\circ}$ C。
2. 将水浴锅温度设置到 56 $^{\circ}$ C，并将 Buffer TE 放在 56 $^{\circ}$ C 温育。
3. 根据试剂瓶标签上的指示在 Buffer WBR 中加入无水乙醇，并在标签的方框中打勾做好“乙醇已加”的标记。
4. 根据需要制备的核酸样本数计算所需使用的 Buffer VL 体积（200 μ l Buffer VL/管，注意由于加液过程可能存在误差，建议计算时增加 300~500 μ l Buffer VL 的体积），按每 1 ml Buffer VL 体积加入 25 μ l Carrier RNA 的比例加入 Carrier RNA，旋涡振荡数秒混匀。

操作步骤

样本使用前处理

- A. 血浆、血清、无细胞体液、病毒原液、尿标本、脑脊液、疱疹液及细胞培养上清：
直接吸取 200 μ l 样本进行病毒核酸的分离纯化；如果样本体积不足 200 μ l，则补加 PBS 溶液或生理盐水至 200 μ l。
- * 尽量采用新鲜分离的或者冻融不超过一次的样本进行病毒核酸的分离纯化。
- B. 咽拭子洗液、生殖道拭子洗液、漱口液：
吸取 300 μ l 样本到 1.5 ml 离心管中，12000 rpm 离心 5 分钟，吸取 200 μ l 上清液进行病毒核酸的分离纯化。
- C. 感染病毒的组织：
取 10 mg 感染病毒的组织进行液氮研磨，研磨后加入 300 μ l PBS 溶液或生理盐水悬浮，吸取 200 μ l 组织悬浮液进行病毒核酸的分离纯化。
- D. 粪便：
在 1.5 ml 离心管中加入 1 ml PBS 溶液或生理盐水，用灭菌的牙签挑取约 200 mg 左右（如果粪便呈液体状，直接吸取 200 μ l），加入到 1.5 ml 离心管中，旋涡振荡直至粪便完全分散开来。12000 rpm 离心 1 分钟，取 200 μ l 顶部上清液进行病毒核酸的分离纯化。
- 在 1.5 ml 离心管中加入 20 μ l 蛋白酶 K 贮存液，再加入 200 μ l 处理好的液体样本。

* 如果液体样本少于 200 μ l，可补加 PBS 溶液或生理盐水使液体样本终体积至 200 μ l。
* 不要将蛋白酶 K 贮存液直接加入到 Buffer VL 中。
 - 加入 200 μ l 含 Carrier RNA 的 Buffer VL，盖上管盖，旋涡振荡约 15 秒混匀，56°C 水浴 10 分钟。
 - 加入 320 μ l 无水乙醇，盖上管盖，温和地翻转 4~6 次混合均匀。

* 为避免打开管盖时样本间的交叉污染，开盖前可低速离心数秒，使管盖上的溶液沉降到管底。
 - 吸取步骤 3 中的溶液加入到核酸纯化柱中（核酸纯化柱置于 2 ml 收集管中），盖上管盖，12000 rpm 离心 30 秒。

* 注意不要将溶液沾到纯化柱管口的边缘上，以免后续的洗涤步骤不能洗净纯化柱。
 - 弃 2 ml 收集管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2 ml 收集管中，在核酸纯化柱中加入 700 μ l Buffer WBR，盖上管盖，12000 rpm 离心 30 秒。

* 滤液无需彻底弃尽，如果要避免粘附在收集管管口的滤液对离心机的污染，可将 2 ml 收集管在纸巾上倒扣拍击一次。
* 确认在 Buffer WBR 中已经加入无水乙醇。
 - 弃 2 ml 收集管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2 ml 收集管中，14000 rpm 离心 1 分钟。

* 如果离心机的离心速度达不到 14000 rpm，则用最高速离心 2 分钟。
* 请勿省略该步骤，否则可能因所纯化的核酸中混有乙醇而影响后续的 PCR 效果。
 - 弃 2 ml 收集管，将核酸纯化柱置于一个新的 RNase-free 1.5 ml 收集管中，在纯化柱的膜中央加入 50 μ l 56°C 预热的 Buffer TE，盖上管盖，室温静置 1 分钟，12000 rpm 离心 30 秒。

* 如果离心机没有防泄漏的盖子，请将离心条件改为 8000 rpm 离心 1 分钟，以免管盖脱落而损伤离心机。
 - 弃纯化柱，洗脱的病毒核酸可立即用于各种分子生物学实验；或者将病毒核酸储存于 -70°C 以下备用。