

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 <sub>2</sub> O (瓶装)	15 ml
Proteinase K	1 ml
Carrier RNA	310 µg
RNase-Free ddH <sub>2</sub> 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) (RNase-Free Centrifuge Tubes 1.5 ml)	50个

### 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  $\mu$ 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  $\mu$ g Carrier RNA冻干粉的管子中加入310  $\mu$ l RNase-Free ddH<sub>2</sub>O，将Carrier RNA彻底溶解，得到终浓度为1  $\mu$ g/ $\mu$ 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 ddH<sub>2</sub>O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  $\mu$ 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  $\mu$ 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  $\mu$ 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  $\mu$ 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  $\mu$ l RNase-Free ddH<sub>2</sub>O，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 ddH<sub>2</sub>O）在室温平衡后再使用。如果加入洗脱液的体积很小(小于50  $\mu$ 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。

---