

## 体液病毒 DNA/RNA 小量提取试剂盒

本试剂盒适用于从 200 $\mu$ l 体液（血清、血浆、腹水、细胞培养上清、脑脊髓液或尿液等）中提取高纯度的病毒 DNA 或 RNA。本试剂盒无需酚、氯仿等有毒试剂，具有安全、高效、稳定的特点。试剂盒内所有试剂与耗材均无核酸酶活性，提取得到的 DNA 或 RNA 分子完整、纯度高，适用于各种后续分子生物学实验，如：RT-PCR、体外翻译、Northern Blotting、测序等。

### 一、试剂盒组成与保存

Cat.	EK03004	EK03005	EK03025
制备次数	4 tests	50 tests	250 tests
RNA column	4	50	250
2.0ml collection tube	8	100	500
1.5ml collection tube	4	50	250
Lysis buffer A2	1 ml	12 ml	60 ml
Lysis buffer B2	1 ml	4 ml	20 ml
Wash buffer A2	2.4 ml	24 ml	120 ml
Wash buffer B	2.4 ml	24 ml	72 ml
Buffer TE (DNase/RNase-free)	1 ml	6 ml	30 ml

本试剂盒可以在室温条件运输和保存。

### 二、注意事项和实验前的准备

- 1、 体液病毒具有很强的感染能力，请在操作前做好相应的防护措施；所有使用过的耗材均需丢弃于特定的带有消毒剂的废物缸，切忌乱丢污染环境。
- 2、 **第一次使用前，在 Wash buffer A2 与 Wash buffer B 中按照试剂瓶上指定的体积加入无水乙醇。**
- 3、 **请提前准备含 1%冰醋酸的异丙醇溶液：在 99ml 异丙醇中加入 1ml 冰醋酸，混匀。**
- 4、 部分试剂中含有刺激性物质，操作时需要佩戴手套，并避免直接接触皮肤，若有不慎沾染到皮肤或是眼睛时，需要立即使用大量清水冲洗，必要时就医。
- 5、 本试剂盒所有试剂与耗材都是经过处理，无外源核酸污染，请使用无 DNA/RNA 污染的枪头取用试剂，以防外源 DNA/RNA 污染。
- 6、 如果提取病毒 RNA，建议使用无 RNase 污染的枪头和离心管，以防 RNase 污染。并且在洗脱纯化 RNA 时，在 Buffer TE 中添加 RNase inhibitor (PK012 RNasesafe<sup>®</sup> Ribonuclease inhibitor)。

### 三、实验步骤

- 1、 取 200 $\mu$ l 体液样品，转移至 1.5ml 离心管中；

注：如果样品中有细胞或是其他悬浮物质的存在，请 12000  $\times$ g 离心 2min，取上清 200 $\mu$ l 进行后续实验。

注：以下步骤中所有试剂的使用量是按 200 $\mu$ l 体液样品设计的，如果使用其他的体积，请按比例扩大或减少 Lysis buffer A2、B2 以及异丙醇（含 1%冰乙酸），其他 buffer 用量保持不变。

- 2、加入 200  $\mu$ l Lysis buffer A2, 漩涡混匀, 静置 5min;
- 3、加入 75  $\mu$ l Lysis buffer B2, 漩涡混匀, 12000 $\times$ g 离心 5min;
- 4、转移上清至 2.0ml collection tube (试剂盒提供), 加入 300  $\mu$ l 异丙醇 (含 1%冰醋酸), 颠倒混匀;
- 5、将 RNA column 放入 2.0ml collection tube (试剂盒提供) 中, 将步骤 4 中的混合液转移至 RNA column 中, 6000 $\times$ g 离心 1min;
- 6、弃滤液, 将 RNA column 放回 2.0ml collection tube, 在 RNA column 中加入 500 $\mu$ l Wash buffer A2, 室温静置 1min, 12000 $\times$ g 离心 1min;  
**注: 请确认在 Wash buffer A2 中已加入试剂瓶上指定体积的无水乙醇。**
- 7、弃滤液, 将 RNA column 放回 2.0ml collection tube, 在 RNA column 中加入 800 $\mu$ l Wash buffer B, 12000 $\times$ g 离心 1min;  
**注: 请确认在 Wash buffer B 中已加入试剂瓶上指定体积的无水乙醇。**
- 8、弃滤液, 将 RNA column 放回 2.0ml collection tube, 12000 $\times$ g 离心 1min;
- 9、将 RNA column 置于洁净的 1.5ml collection tube (试剂盒提供) 中, 在 column 膜中央滴加 40-60 $\mu$ l Buffer TE (DNase/RNase-free), 室温静置 1min, 12000 $\times$ g 离心 1min, 洗脱核酸。  
**注: 纯化病毒 RNA 时, 建议在洗脱液中加入 RNase inhibitor, 浓度为 1U/ $\mu$ l。**