

UE 体液病毒 DNA/RNA 小量制备试剂盒

本试剂盒采用制备膜选择性地吸附 DNA/RNA 的方法达到快速纯化病毒 DNA/RNA 的目的。适合于从 200 μ l 体液（包括血浆，血清，腹水，培养细胞上清液，脑脊髓液，尿液，脱落细胞悬浮液等）中提取高纯的病毒 DNA/ RNA，用于 PCR/RT-PCR、测序、体外转录与翻译、限制性内切酶消化、细菌转化等分子生物学实验。

一、试剂盒组成、贮存、稳定性

Cat.No.	UE-MN-BF-VNA -10	UE-MN-BF-VNA -50	UE-MN-BF-VNA -250
Kit size	10 preps	50 preps	250 preps
Miniprep column	10	50	250
2 ml microfuge tube	20	100	500
1.5 ml microfuge tube	10	50	250
Buffer V-L	3 ml	12 ml	60 ml
Buffer V-N	1 ml	4 ml	20 ml
Buffer W1A concentrate	5 ml	24 ml	120 ml
Buffer W2 concentrate	5 ml	24 ml	72 ml
Buffer TE (nuclease-free)	1 ml	4 ml	20 ml
Protocol manual	1	1	1

Buffer V-L: 病毒裂解液，室温密闭贮存。

Buffer V-N: 蛋白去除液，室温密闭贮存。

Buffer W1A: 洗涤液，使用前，按试剂瓶上指定的体积加入无水乙醇（可用 100%乙醇或 95%乙醇），混合均匀，室温密闭贮存。

Buffer W2 concentrate: 去盐液，使用前，按试剂瓶上指定的体积加入无水乙醇（可用 100%乙醇或 95%乙醇），混合均匀，室温密闭贮存。

Buffer TE (nuclease-free) : 5 mM Tris-HCl, 0.1 mM EDTA, pH 8.5。无 DNA/RNA 酶活性，室温密闭贮存。

二、注意事项

1. 病毒具有很强的感染能力，操作前必须准备好各种防御措施。
2. 操作时严格按操作步骤进行，废物必须放入含消毒液的废物缸，以免污染实验室和工作人员。
3. 为避免其它核酸的污染而出现假阳性，必须使用不含 DNA 和 RNA 的离心管、吸管、Tip 头、试剂和手套，工作人员戴口罩进行操作。
4. Buffer V-L、Buffer V-N 和 Buffer W1A 含刺激性化合物，操作时要戴乳胶手套和眼镜，避免沾染皮肤、眼睛和衣服，谨防吸入口鼻。若沾染皮肤、眼睛，要立即用大量清水或生理盐水冲洗，必要时寻求医疗咨询。

三、实验准备

1. 第一次使用时，在 Buffer W1A 和 Buffer W2 concentrate 中按试剂瓶上指定的体积加入无水乙醇。
2. 准备异丙醇（1%冰乙酸）：在 99 ml 异丙醇中加 1 ml 冰乙酸，混合均匀，室温密闭贮存。
3. 如果提取的是病毒 RNA，请选用 RNase free Tip 头和 1.5 ml 离心管或将 Tip 头和 1.5 ml 离心管。用 0.1% DEPC 水处理后再使用，以避免纯化过程中病毒 RNA 被 RNase 所降解。纯化病毒 RNA 时，建议在洗脱液中加入 RNasin。

四、操作步骤

以下操作步骤是从 200 μ l 血清中提取病毒 DNA /病毒 RNA 为例而设计的，从其他体积的样品中提取病毒核酸可按比例加 Buffer V-L, Buffer V-N 和异丙醇（1%冰乙酸），以后步骤中的 Buffer 用量不变。

1. 收集 200 μ l 样品，转入 1.5 ml 离心管中。

*如果样品中有细菌或细胞污染，可先 12,000 $\times$ g 离心 5 min，取上清 200 μ l 作为样品。

2. 加 200 μ l Buffer V-L，漩涡振荡混合均匀，静置 5 min。
3. 加 75 μ l Buffer V-N，漩涡振荡混合均匀，12,000 $\times$ g 离心 5 min。
4. 将上清转移到新的 2 ml 离心管（试剂盒内提供）中，加 300 μ l 异丙醇（1%冰乙酸），上下倒置 6-8 次，混合均匀。
5. 将制备管置于 2 ml 离心管（试剂盒内提供）中，取步骤 4 中的混合液移入制备管中，6,000 $\times$ g 离心 1 min。
6. 弃滤液，将制备管置回到 2 ml 离心管中，加 500 μ l Buffer W1A，室温静置 1 min。12,000 $\times$ g 离心 1 min。
*确认在 Buffer W1A concentrate 中已按试剂瓶上指定的体积加入无水乙醇。
7. 弃滤液，将制备管置回到 2 ml 离心管中，加 800 μ l Buffer W2，12,000 $\times$ g 离心 1 min。
*确认在 Buffer W2 concentrate 中已按试剂瓶上指定的体积加入无水乙醇。
8. 将制备管置回到 2 ml 离心管中，12,000 $\times$ g 离心 1 min。
9. 将制备管置于洁净的 1.5 ml 离心管（试剂盒内提供）中，在制备管膜中央加 40-60 μ l Buffer TE (nuclease-free)，室温静置 1 min。12,000 $\times$ g 离心 1 min 洗脱 DNA/RNA。

*纯化病毒 RNA 时，建议在洗脱液中加入 RNasin 浓度为 1 单位/ μ l。

五、流程图

