天净沙系列

CAT#:220568

常温运输及保存

天净沙

病毒 DNA-RNA 纯化试剂盒（过柱法）

Virus DNA-RNA Purification Kit

使用手册 V1.0

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

产品及特点

本产品是专门用于从血清（血浆）等液体样品及拭子（咽拭子、鼻拭子、口腔拭子、阴道拭子等）中提取微量病毒 DNA-RNA 的产品，它具有下列特点：

1. 操作简单，整个过程只需要 20 分钟左右，不需要额外在洗柱液中补加乙醇。
2. 灵敏度高，通过 PCR 检测到的最终灵敏度可以达到 30-50 拷贝/mL。
3. 安全无毒，不需要使用苯酚和氯仿等有机溶液。
4. 如果加上病毒离心富集步骤，最多可以处理 1.5 mL 液体病毒样品。
5. 与 PCR 和荧光 PCR 兼容。
6. 价廉物美，性价比远高于国外同类产品。
7. 适用于各种材料，包括血清、血浆、脑脊液、尿液、粪便、培养细胞上清液等无细胞材料。
8. 本试剂盒足够 50 次提取。
9. 本产品只能用于科研。

规格及成分

本产品使用大扁盒包装

成份	编号	规格	包装
病毒裂解液	211244	30 mL	30 mL 本色瓶
上柱结合液	990602	40 mL	60 mL 本色瓶
离心吸附柱	220144	50 套	logo 热封袋
通用洗柱液	220143	50 mL	60 mL 本色瓶
RNA 洗脱液	971207	10 mL	10 mL 本色瓶
使用手册	220568sc	1 份	无

运输及保存

常温运输及保存，病毒裂解液长期（1 月以上）放置时需要放 4℃，有效期一年。

自备材料

无，但需要自备 RNase-free 的 1.5 mL 离心管（耗材）。

使用方法

1. 如果有 N 个样品，标记 N+2 个 1.5-2 mL 离心管，多出的一个为阳性对照，一个为阴性对照。为避免污染，建议不要使用压盖式塑料离心管。在每个管上做个标记，以在后续操作时区别向心面和离心面。然后在离心管中分别加入 0.2 mL 液体样品（血清、血浆、尿液、脑脊液、唾液、眼泪等等），阳性对照和阴性对照。

   1.1、 如果是口腔拭子、咽喉拭子等各种拭子样品，则将拭子放入 0.2 mL 自备生理盐水中挤压出液体，然后取 0.2 mL 进行提取。

   1.2、 如果是粪便等半固定样品，则取约 0.3 mL 的样品，加入 0.3 mL 自备生理盐水，震荡重悬，离心取 0.2 mL 上清进行提取。

   1.3、 如果血液，细胞培养液等含细胞的液体，可以离心用上清，也可以直接取用，

	但后者提取的病毒核酸中会有少量细胞的基因组核酸污染（但不影响 PCR)。血浆的抗凝剂必须是 EDTA 或 ACD，不能是肝素。使用 ACD 时由于所加入 ACD 会增加体积，样品会被稀释，得到的病毒滴度会比使用 EDTA 低 15%左右。血浆最好按 0.6 mL/管的量分装保存，以避免反复冻融。 1.4、 如果样品是实体组织或培养细胞，则需要在自备生理盐水中匀浆后离心，用 0.2 mL 上清液（含病毒）进行提取，但此种情况下最后得到的病毒核酸不可避免的会含有少量基因组核酸污染（但不影响 PCR 检测)。 1.5、 如果液体样品中的病毒需要富集，可以使用 1.5 mL 上述方法得到的液体在 4℃ 24,000×g 冷冻离心 60 分钟，移弃 1.3 mL、用剩下的 0.2 mL 继续操作。 2. 加入 0.6 mL 病毒裂解液到各离心管中,振荡 30 秒混匀后室温放置 10 分钟裂解病毒。注意：病毒裂解液在 4℃放置后可能会产生沉淀，使用前必须放在 65℃水浴使沉淀彻底溶解并充分摇匀后再取用。 3. 室温放置 10 分钟。 4. 加入 0.8 mL 上柱结合液到离心管中，颠倒混匀后转移一半的混合液（0.8 mL）到离心吸附柱中，室温放置 2 分钟。 5. 12,000×g 室温离心 1 分钟，弃收集管中的穿透液，把离心吸附柱放回到收集管中。 6. 将剩余的另外一半裂解液（0.8 mL）转移到离心吸附柱中，室温放置 2 分钟。 7. 12,000×g 室温离心 1 分钟，弃收集管中的穿透液，把离心吸附柱放回到收集管中。 8. 加入 0.7 mL 通用洗柱液到离心吸附柱中，12000×g 室温离心 1 分钟，弃收集管中的穿透液，把离心吸附柱放回到收集管中。 9. 加入 0.3 mL 通用洗柱液到离心吸附柱中，12000×g 室温离心 1 分钟，弃收集管中的穿透液，把离心吸附柱放回到收集管中。此为第二次洗涤，可以跳过。 10. 12,000×g 室温离心 1 分钟（干甩），弃含穿透液的离心管。 11. 将干甩后的离心吸附柱套入到一个自备的 RNase-free 的 1.5 mL 离心管中，在离心吸附柱的滤膜的中部加入 30-100 μL RNA 洗脱液，然后室温放置 2 分钟。 12. 12000×g 室温离心 1 分钟，离心管中的溶液即为病毒 DNA-RNA 溶液。 13. DNA-RNA 样品可以直接用于 PCR 或 RT-PCR，也可放-20℃长期保存。
疑难解答	Q：提取液体样品/病毒核酸（RNA 或 DNA）为何很难? A：原因一是量少。病毒颗粒中的 RNA 或 DNA 是作为遗传物质保存，每个病毒最多只携带几个拷贝（而一个细胞中有上万种 RNA 分子，每种 RNA 有很多拷贝)，同时其长度也十分有限（一般不到细胞基因组的万分之一)，样品中病毒数往往又不是很多，使得

	样品中病毒核酸的绝对量往往比一个细胞中核酸的绝对量还少，所以操作中十分容易丢失。另外，由于得到的核酸绝对量很少，不能使用电泳和测 OD 检测，只能通过 PCR 或 RT-PCR 检测，而 PCR 或 RT-PCR 的条件又需要优化，所以要确定提取是否成功十分不容易。
关联产品	病毒 RNA 纯化试剂盒（过柱法）