WUHAN HUIYUCHENG BIOTECHNOLOGY

Version 11/2019

HYCEZMBIO® OminiVirus DNA/RNA Kit 全能型病毒 DNA/RNA 共提取试剂盒

目录号

RHYC62 (50 preps)

试剂盒组成

Component	RHYC62
	(50 preps)
Proteinase K (20 mg/ml)	1 ml
Buffer VL	25 ml
Buffer RW1	30 ml
Buffer RW2 (concentrate)	13 ml (使用前按瓶上标签加入无水乙醇)
RNase-free H₂O	10 ml
Spin Columns RA with	50
Collection Tubes	

保存方法

室温(15-30℃)保存。

本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。

产品介绍

本试剂盒采用独特的缓冲液系统和特异性结合病毒 DNA/RNA 的离心吸附柱,适用于从动物组织、血浆、血清、淋巴液、培养上清、分泌物、拭子、粪便、牛奶、尿液等样品中快速提取高纯度病毒 DNA/RNA。样本裂解后病毒 DNA/RNA 在高离序盐状态下特异性结合到吸附柱内硅胶膜上,经两步洗涤液的清洗完全去除硅胶膜吸附的少量杂质。提取的病毒 DNA/RNA 纯度高,质量稳定可靠,可以直接用于 PCR/RT-PCR、酶切、文库构建、Southern 杂交等下游实验。

实验前准备及重要注意事项

- 1. 使用 RNase-free 的离心管:避开经常使用 RNase 的区域,以免 RNase 气溶胶污染。
- 2. 提取的样品避免反复冻融,否则影响 RNA 提取得率和质量。
- 3. 第一次使用 Buffer RW2 前应按照试剂瓶标签的说明加入无水乙醇。

操作步骤(以下所有离心步骤均在室温下进行)

- 1. 液体样本(如血浆/血清/淋巴液/脑脊液/细胞培养上清液/漱口水/尿液等):
 - **1)** 取 200 μl 液体样本(<u>样品需平衡至室温</u>,不足可用 0.9% NaCl 或 PBS 补足)至 1.5 ml 离心管中,加入 400 μl Buffer VL,立即涡旋振荡充分混匀。
 - **2)** 室温(15-25℃)放置 10 min。
 - 3) 加入 450 μl 无水乙醇, 立即涡旋振荡充分混匀。注意: 如果周围环境高于 25℃, 乙醇需要冰上预冷后再加入。。

下接操作步骤 5 进行提取。

2. 鼻拭子/咽拭子:

- 1) 取样后与生理盐水或病毒运输液彻底颠倒或涡旋振荡混匀后取 200 μl 至 1.5 ml 离 心管,加入 400 μl Buffer VL,立即涡旋振荡充分混匀。
- 2) 室温(15-25℃)放置 10 min。
- 3) 加入 450 μl 无水乙醇, 立即涡旋振荡充分混匀。

下接操作步骤 5 进行提取。

3. 粪便样本:

- 1) 取 500 μ l 粪便样本悬浮于 5 ml 生理盐水中,彻底涡旋振荡混匀后,4,000×g (6,000 rpm)离心 20 min 后取 200 μ l 上清至 1.5 ml 离心管,加入 400 μ l Buffer VL,<u>立即涡</u>旋振荡充分混匀。
- 2) 室温(15-25°C)放置 10 min。
- 3) 加入 450 µl 无水乙醇, 立即涡旋振荡充分混匀。

下接操作步骤 5 进行提取。

4. 感染病毒的组织样本:

- 1) 剪取病变组织 20 mg(约大米粒大小), 依次加入 150 μl Buffer VL、450 μl 去离子 水和 20 μl 蛋白酶 K, 充分研磨匀浆, 56℃水浴消化 15 min, 瞬时离心取 100 μl 上清液至 1.5 ml 离心管中。
- 2) 加入 300 μl Buffer VL, 涡旋振荡充分混匀。
- 3) 加入 250 µl 无水乙醇,涡旋振荡充分混匀。

下接操作步骤 5 进行提取。

- 5. 将上述混合液转入已装入收集管的吸附柱(Spin Columns RA)中,若一次不能将全部溶液加入吸附柱中,请分两次转入。12000 rpm 离心 1 min,倒掉收集管中的废液。
- 6. 向吸附柱 RA 中加入 500 µl Buffer RW1, 12,000 rpm 离心 1 min, 弃废液。
- 7. 向吸附柱 RA 中加入 500 μ l Buffer RW2(<u>使用前检查是否加入无水乙醇!</u>),12,000 rpm 离心 1 min,弃废液,将吸附柱重新放回收集管中。
- 8. 重复步骤 7。
- 9. 将吸附柱放回空收集管内,12,000 rpm 离心 2 min。 注意:这一步的目的是去除吸附柱中残余乙醇,乙醇残留会影响后续的酶促反应(酶切、PCR等)。
- 10. 将吸附柱 RA 放入新的 RNase-free 离心管中,向吸附膜的中间部位悬空滴加 30-50 μl RNase-Free H₂O,室温放置 2 min,12,000 rpm 离心 1 min,收集溶液,-70℃保存,防止降解。