

RNA/DNA Kit for Virus Detection**检测用病毒核酸（DNA/RNA）提取试剂盒**

目录号: RN55

❖ 试剂盒组成、储存、稳定性:

试剂盒组成	保存	50次(RN5501)
裂解液 VLB	室温	25 ml
去蛋白液 RE	室温	25 ml
漂洗液 RW	室温	10 ml <i>第一次使用前按说明加指定量乙醇</i>
RNase-free H ₂ O	室温	10 ml
蛋白酶 K 溶液	4℃或者室温	1 ml
RNase-free 吸附柱 RA 和收集管	室温	50 套

本试剂盒在室温储存 12 个月不影响使用效果。

储存事项:

1. 蛋白酶 K 保存在即用型甘油缓冲液中，常温运输，收到后，不超过 25℃室温至少保存 6 个月，4℃保存 12 个月，-20℃保存 2 年。。
2. 避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、PH 值变化，各溶液使用后应及时盖紧盖子。

❖ 产品介绍:

本试剂盒适用于动物组织、血浆、血清、淋巴液、培养上清、分泌物、拭子、粪便、牛奶、尿液等样品中病毒核酸的提取，可同时提取样本中的 DNA 和 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，配合本公司独特的裂解液配方可以最大限度的回收高纯度病毒核酸。提取的病毒 RNA/DNA 纯度高，质量稳定可靠，可适用于各种下游应用实验，如反转录和 RT-PCR。

❖ **注意事项**

1. **所有的离心步骤均在室温完成**，使用转速可以达到13,000 rpm的传统台式离心机。
2. 冰箱内保存的样品，使用前将样品平衡至室温。

❖ **操作步骤：（实验前请先阅读注意事项）**

提示：

- ⇒ 第一次使用前请先在漂洗液 RW 瓶加入指定量无水乙醇！
- ⇒ 将样品平衡至室温。

1. 无细胞体液（例如：血浆/血清/淋巴液/无细胞体液/细胞培养上清液/尿液）：

- a. 200µl 血清等体液（需回复到室温，不足可用 0.9% NaCl 或者 PBS 补足）转入 1.5ml 离心管，加入 400µl 裂解液 VLB，立刻涡旋振荡 15 秒充分混匀。
- b. 室温(15-25℃)放置 10 分钟。
- c. 加入 450µl 无水乙醇，立刻涡旋振荡 15 秒充分混匀。

注意：如果周围环境高 30℃，乙醇需要再在冰上预冷后再加入。

- d. 立刻接**操作步骤**的步骤 5。

2. 粪便样品：

- a. 取 500µl 0.5-1 ml 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 后取上清 200µl 转入 1.5ml 离心管，加入 400µl 裂解液 VLB，立刻涡旋振荡 15 秒充分混匀。
- b. 室温(15-25℃)放置 10 分钟。
- c. 加入 450µl 无水乙醇，立刻涡旋振荡 15 秒充分混匀。
- d. 立刻接**操作步骤**的步骤 5。

3. 鼻拭子/咽拭子：

- a. 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 200µl 转入 1.5ml 离心管，加入 400µl 裂解液 VLB，立刻涡旋振荡 15 秒充分混匀。
- b. 室温(15-25℃)放置 10 分钟。
- c. 加入 450µl 无水乙醇，立刻涡旋振荡 15 秒充分混匀。
- d. 立刻接**操作步骤**的步骤 5。

4. **组织样本（气管、肺、喉头、脾脏、扁桃体、法氏囊、肾脏和淋巴结等）：**

a. 选取病变明显的组织块剪取样品约 20mg（备注：A.可选择多部位剪碎混匀后再取。B.一粒大米重约 20mg。C.请勿使用过量组织，影响提取效果），依次加入 150 μ l 裂解液 VLB、450 μ l 实验室纯水或者去离子水（不用灭菌）和 20 μ l 蛋白酶 K，用眼科剪反复多次剪碎混匀或用电动匀浆器匀浆，置 56 $^{\circ}$ C 水浴中消化 15-30 分钟（视消化情况）后瞬时离心取上清。

b. 将上述处理后样本离心取上清 100 μ l 转入 1.5ml 离心管，加入 300 μ l 裂解液 VLB，立刻涡旋振荡充分混匀。

c. 加入 250 μ l 无水乙醇，立刻涡旋振荡 15 秒充分混匀。

d. 立刻接**操作步骤**的步骤 5。

5. 将混合物(每次小于 720 μ l，多可以分两次加入)加入一个吸附柱 RA 中，（吸附柱放入收集管中）12,000 rpm 离心 1 分钟，弃掉废液。

确保离心后液体全部滤过去，膜上没有残留，如有必要，可以加大离心力和离心时间。

6. 加 500 μ l 去蛋白液 RE，12,000rpm 离心 30 秒，弃废液。

7. 加入 500 μ l 漂洗液 RW（请先检查是否已加入无水乙醇!），12,000rpm 离心 30 秒，弃废液，加入 500 μ l 漂洗液 RW，重复一遍。

8. 将吸附柱 RA 放回空收集管中，12,000rpm 离心 2 分钟，尽量除去漂洗液，以免漂洗液中残留乙醇抑制下游反应。

9. 取出吸附柱 RA，放入一个 RNase free 的离心管中，在吸附膜的中间部位加 30-50 μ l RNase free H₂O，室温放置 1 分钟，12,000rpm 离心 1 分钟。如果想得到较多量的 DNA/RNA，可将得到的溶液重新加入离心吸附柱中，12,000rpm 离心 1 分钟。

洗脱体积越大，洗脱效率越高。如果需要 DNA/RNA 浓度较高，可以适当减少洗脱体积，但是最小体积不应少于 20 μ l，体积过小降低洗脱效率，减少 DNA/RNA 产量。

10. 病毒离心管中所得液体即为检测所需的样本 DNA 或 RNA。核酸提取完后请立即实验。如需短期保存，DNA 病毒核酸可以存放可以放置在-20 $^{\circ}$ C 冰箱；RNA 病毒核酸立刻短期放置在-70 $^{\circ}$ C 超低温冰箱。