



## **Viral DNA/RNA Isolation Kit**

Cat.No.DR-01011/01012/01013

For purification of viral DNA/RNA from plasma, serum, cell-free body fluids, cell-culture supernatants

For research use only

Store at room temperature



## 目 录

产品介绍	3
产品特点	3
试剂盒应用	4
病毒核酸的应用	4
核酸的储存	4
产品质量控制	4
试剂盒内容	5
产品信息	5
储存条件	5
试剂盒组分信息	6
DNA/RNA Column 特性	6
核酸提取得率与纯度	6
注意事项	7
操作前准备事项	8
实验材料和设备	8
自备试剂	8
安全性	8
操作指南	9
样品的保存	9
样品在 Buffer DRL 中的保存	9
样品初始用量	9
材料取用说明	9
预防 RNase 污染	10
● 病毒核酸提取操作步骤	11
病毒 DNA/RNA 分析	12
快速操作示意图	13
问题分析指南	14

## 产品介绍

该试剂盒采用本公司研制的离心柱和配方，可以从血浆、血清、无细胞体液和细胞培养上清液等样品中高效率分离纯化病毒的 DNA 和 RNA。试剂盒特别加入了 Linear Acrylamide，可以从体系中轻松捕获微量 DNA 和 RNA，具有方便快捷、产量高、重复性好的特点。DNA/RNA Column 能高效的结合 DNA 和 RNA，搭配独特的配方，可以同时处理大量样品。

全体系 RNase-Free，使得纯化得到的病毒核酸无降解；Buffer RW1、Buffer RW2 缓冲液洗涤体系，使得获得的病毒核酸无蛋白、核酸酶或其它杂质的污染，可直接用于下游分子生物学实验。

## 产品特点

- ◆ 整套试剂盒 RNase-Free，无需担心 RNA 降解。
- ◆ 核酸得率高：DNA/RNA Column 和独特配方搭配能高效的纯化 DNA 和 RNA。
- ◆ 样品处理量大：每次可处理多达 200 $\mu$ l 样品。
- ◆ 速度快：操作简便，可在 20 分钟内完成。
- ◆ 安全：无需有机试剂抽提。
- ◆ 质量高：提取得到的病毒核酸纯度高，没有蛋白和其它杂质污染，能够满足下游各种实验应用。

## 试剂盒应用

适用于血浆、血清、无细胞体液和细胞培养上清液等样品中病毒核酸提取纯化。

## 病毒核酸的应用

Viral DNA/RNA Isolation Kit 纯化得到的病毒 DNA 和 RNA 可用于各种下游分子实验，例如： Real Time PCR、RT-PCR、RT-qPCR、分子克隆等。

## 核酸的储存

建议使用 RNase-Free ddH<sub>2</sub>O 洗脱核酸，即时用于下游实验或储存于-80°C。在-80°C 存储条件下，核酸可保存一年。

## 产品质量控制

按照福际生物试剂盒质量检测体系标准(FOREGENE's Total Quality Management System)，每一批次的病毒 DNA/RNA 提取试剂盒都严格进行多次测试，确保每一批次试剂盒质量的可靠性和稳定性。

## 试剂盒内容

Viral DNA/RNA Isolation Kit 病毒 DNA/RNA 提取试剂盒			
试剂盒组成	DR-01011	DR-01012	DR-01013
	50 次	100 次	200 次
Linear Acrylamide	120µl	240µl	480µl
Buffer DRL*	25ml	50ml	100ml
Buffer RW1*	25ml	50ml	100ml
Buffer RW2	24ml	48ml	96ml
RNase-Free ddH <sub>2</sub> O	10ml	20ml	40ml
DNA/RNA Column	50 套	100 套	200 套
说明书	1 份	1 份	1 份

\*: Buffer DRL、Buffer RW1中含有具刺激性的离液盐，操作时请注意戴上手套和进行相关防护措施。

## 产品信息

型号	离心柱型	纯化组件	Foregene 离心柱、试剂
通量	1-24 个样品	制备时间	~20min(24 个样品)
离心机	台式离心机	离心柱液体盛装量	800µl
纯化柱核酸承载量	20µg	样品处理量	≤200µl
洗脱体积	30-50µl		

## 储存条件

- ❖ 本试剂盒在常温(15–25°C)干燥条件下，可保存 12 个月；如需保存更长时间可置于 2–8°C。

注意：若低温保存，溶液容易产生沉淀。在使用前务必将试剂盒内的溶液在室温中放置一段时间，必要时可在 37°C 水浴中预热 10 分钟，以溶解沉淀，混匀后再使用。

- ❖ Linear Acrylamide 溶液，常温可保存 7 天；试剂盒收到后请取出置于-20°C 保存。
- ❖ Buffer DRL 加入 Linear Acrylamide 后，在 2-8°C 能最多保存 48h，请现用现配。

## 试剂盒组分信息

- ◆ Linear Acrylamide: 降低纯化柱的本底吸附，捕获体系中的微量核酸。
- ◆ Buffer DRL: 提供样本裂解所需的环境以及过柱环境。
- ◆ Buffer RW1: 去除核酸中的蛋白质等杂质。
- ◆ Buffer RW2: 去除核酸中残留的盐离子。
- ◆ RNase-Free ddH<sub>2</sub>O: 洗脱纯化柱膜上的核酸。
- ◆ DNA/RNA Column: 高效吸附核酸。

## DNA/RNA Column 特性

核酸最大结合能力(Maximum binding capacity)	20µg
上柱最大载量体积(Maximum loading volume)	800µl
最小洗脱体积(Minimum elution volume) <sup>1*</sup>	30µl
最佳样品选取(Selection of samples)	血浆、血清、无细胞体液或细胞培养上清液等
样品量(Maximum amount of starting material) <sup>2*</sup>	200µl

**1\***: 30µl 的最小洗脱体积是在兼顾核酸回收率及浓度给出的比较合理的建议体积。如果为了提高核酸的产量，可以适当增加洗脱液体积；如果为了提高纯化得到的核酸浓度，在牺牲一部分核酸得率的前提下，适当的减少洗脱液体积，比如采用 15µl 的洗脱体积，可得到更高浓度的核酸。

**2\***: 更大的样本量，请使用多个 DNA/RNA Column 进行核酸纯化。

## 核酸提取得率与纯度

使用 Viral DNA/RNA Isolation Kit 可以从血浆、血清、无细胞体液和细胞培养上清液等样品中纯化得到的病毒核酸，其产量与样本本身、样本初始量、样本新鲜程度、样本保存时间以及操作相关。纯化得到的核酸，其 OD<sub>260/280</sub>=1.7-2.1。

**注意事项：(请务必在使用试剂盒前仔细阅读注意事项)**

- ◆ 样品应避免反复冻融，否则会导致提取的病毒核酸降解且提取量也会下降。
- ◆ 样品处理量不要超过 200 $\mu$ l，否则会影响病毒核酸产量和纯度。
- ◆ Buffer DRL 加入 Linear Acrylamide 后，在 2-8 $^{\circ}$ C 能最多保存 48h，请现用现配。
- ◆ 试剂盒使用前，请在 Buffer RW2 中添加的无水乙醇，加入量请参照试剂瓶上标签。不同规格的试剂盒无水乙醇的添加量见下表：

产品规格	无水乙醇添加量
DR-01011	60ml
DR-01012	120ml
DR-01013	240ml

- ◆ 核酸产率和质量与洗脱体积和样本处理量有关，建议每 500 $\mu$ l Buffer DRL 使用样品量 200 $\mu$ l。
- ◆ 洗脱体积：洗脱液体积不应少于 30 $\mu$ l，否则会影响核酸回收效率。
- ◆ 所有实验步骤若非特别指出，均在常温(15-25 $^{\circ}$ C)进行。
- ◆ 请检查试剂盒中的 Buffer DRL 和 Buffer RW1 是否有晶体析出现象，若低温存放后有晶体析出，可将 Buffer 放置于室温或 37 $^{\circ}$ C 一段时间，将晶体溶解后混匀再使用。

## 操作前准备事项

使用本试剂盒前，请务必仔细阅读说明书。病毒 DNA/RNA 提取试剂盒操作简单、方便、快速，说明书提供了整个试剂盒的正确使用方法。请在使用前准备好必要的实验材料和设备。

## 实验材料和设备

- ◆ 200 $\mu$ l 新鲜或冻存的血浆、血清、无细胞体液和细胞培养上清液
- ◆ 台式离心机( $\geq 13,400\times g$ )、移液器等。
- ◆ 无菌 RNase-Free 离心管、枪头等。

## 自备试剂

- ◆ 无水乙醇。
- ◆ 异丙醇。

## 安全性

- ◆ 本产品仅供科研使用，请勿用于医药、临床医学、食品及化妆品等用途。
- ◆ 在使用该试剂盒时，请穿戴实验服、一次性乳胶手套、一次性口罩等以保护自身；并最大程度上避免人为引入的 RNase 污染。
- ◆ Buffer DRL 含有离液盐：变性剂，刺激性。
- ◆ Buffer RW1 含有离液盐：变性剂，刺激性。
- ◆ Buffer RW2 含有乙醇：易燃。



## 操作指南

### 样品的保存

血浆、血清在采集后，可在 2-8°C 保存 6 个小时。如果需要长期保存，可置于 -20°C 或者 -80°C。保存过程中要避免冻融(不超过一次)，否则会导致核酸得率降低。在冻融过程形成的蛋白质沉淀会堵塞吸附柱，因此，在样本融解后如果蛋白沉淀肉眼可见，则需要 6,800 ×g 离心 3 分钟，小心吸出上清备用。

### 样品在 Buffer DRL 中保存

核酸在 Buffer DRL 不会受到核酸酶的降解，如果血浆、血清、无细胞体液或细胞培养上清液在加入 Buffer DRL 裂解后，在室温条件下可保存约 24h；在 4°C 中保存约 1 周；更长时间保存请存放于 -80°C，使用时将溶液在室温或 37°C 溶解即可。

### 样品初始用量

正确的样品的初始处理量对于核酸的最佳产量及纯度十分必要，样品的最大处理量与下面因素相关：

- ❖ 样品本身的类型以及样本核酸的丰度；
- ❖ Buffer DRL 的用量决定了样品的有效裂解；
- ❖ DNA/RNA Column 的核酸结合能力。

根据上述因素，我们推荐的样品量 200μl。如果样品处理量过多，Buffer DRL 对于样品裂解不完全，导致纯化获得的核酸纯度不高；同时可能会超过 DNA/RNA Column 的最大承载量而浪费珍贵样本。

### 材料取用说明

血浆、血清、无细胞体液或细胞培养上清液：单次处理，处理量 200μl。

## 预防 RNase 污染

- ◆ 人体接触是重要的 RNase 污染源，请在操作过程中经常更换手套。
- ◆ 请使用无 RNase 的枪头和其他塑料制品。
- ◆ 核酸在 Buffer DRL 中时不会被核酸酶降解，但提取后继续处理过程中应使用不含 RNase 的塑料和玻璃器皿。玻璃器皿可在 150°C 烘烤 4 小时，塑料制品可在 0.5M NaOH 中浸泡 10 分钟，然后用水彻底清洗，高压灭菌，即可去除核酸酶。
- ◆ 配制溶液应使用无 RNase 的水(将水加入处理过不含 RNase 的玻璃瓶中，加入 DEPC 至终浓度 0.01%(v/v)，混匀后放置过夜，高压灭菌)。

## 操作步骤

使用前请先在 Buffer RW2 中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶上的标签。

1. 在 RNase-Free 的 2ml 离心管中加入 **500 $\mu$ l** Buffer DRL 和 **2 $\mu$ l** Linear Acrylamide，来回颠倒混匀，即得裂解工作液。

注意：Buffer DRL 低温易有沉淀析出，若有沉淀析出，请将其置 37 $^{\circ}$ C 孵育溶解，混匀后再使用。为避免溶液出现起泡现象，请勿使用涡旋振荡。随着样品个数的增加，等比例同时放大 Buffer DRL 与 Linear Acrylamide 溶液的添加量。

2. 向上述离心管中加入 **200 $\mu$ l** 血浆(或血清或无细胞体液或细胞培养上清液)(样品需平衡至室温)。涡旋振荡 **15 sec** 混匀。

注意：为了保证裂解充分，样品和裂解工作液需要彻底混匀。

3. 在室温(20-30 $^{\circ}$ C)孵育 10min，简短离心以收集附着在离心管管壁及管盖的液体。
4. 加入 **350 $\mu$ l** 异丙醇，盖上管盖并涡旋振荡 **15sec** 彻底混匀，简短离心以收集附着在管壁及管盖的液体。
5. 小心将离心管中的 **750 $\mu$ l** 混合液转移至 DNA/RNA Column 中(DNA/RNA Column 放入收集管中)，盖上管盖，**8,000rpm** (~6,000  $\times$ g)离心 1min，弃掉收集管中的废液。

注意：如果混合液中出现絮状沉淀，请将沉淀一并转移至 DNA/RNA Column 中。如果吸附柱上的液体未能全部离心至收集管中，请加大转速，延长离心时间至液体完全转移到收集管中。

6. 将 DNA/RNA Column 放回收集管中，将剩余混合液全部加入 DNA/RNA Column 中，**8,000rpm** (~6,000  $\times$ g)离心 1min，弃掉收集管中的废液。
7. 向 DNA/RNA Column 中加入 **500 $\mu$ l** Buffer RW1，**8,000rpm** (~6,000 $\times$ g)离心 1min，弃掉收集管中的废液。
8. 向 DNA/RNA Column 中加入 **700 $\mu$ l** Buffer RW2(使用前请确认已按照说明加入无水乙醇)，**8,000rpm** (~6,000 $\times$ g)离心 1min，弃掉收集管中的废液。
9. 重复步骤 8。
10. 将 DNA/RNA Column 放回收集管中，**12,000 rpm** (~13,400 $\times$ g)空管离心 2min，弃掉收集管。

11. 将 DNA/RNA Column 转移至新的离心管中，向 DNA/RNA Column 的膜中央滴加 **30-50 $\mu$ l** 已于 65°C 预热的 RNase-Free ddH<sub>2</sub>O (切勿将洗脱液添加到压圈上，否则会损失较大体积的洗脱液)，室温放置 2min。12,000rpm (~13,400 $\times$ g) 离心 1min 收集 DNA/RNA 溶液。

注意：RNase-Free ddH<sub>2</sub>O 加入体积不应低于 30 $\mu$ l，体积过小会影响洗脱效率。为提高核酸产量，可将离心得到的 DNA/RNA 溶液重新加至 RNA-only Column 中，重复步骤 11。得到的 DNA/RNA 溶液可直接用于下游实验或置于 -80°C 保存。

## 病毒 DNA/RNA 分析

病毒 DNA/RNA 在一些样品中含量很低，我们不建议使用紫外分光光度计进行浓度与纯度的检测。测定病毒产量可用 PCR、qPCR 及 RT-qPCR 等方法，分析病毒核酸大小，请使用琼脂糖凝胶进行电泳，其次使用病毒特异性标记探针和放射自显影法。

## 快速操作示意图



## 问题分析指南

以下针对病毒 DNA/RNA 提取中可能遇到的问题进行分析，希望能对您的实验有所帮助。另外，对于在操作说明和问题分析以外的其他实验或技术上的问题，我们设有专门的技术支持帮助您。如有任何需要可联系我们：028-83360257 或 E-mail:

Tech@foregene.com。

### 提取不到核酸或者核酸产量低

通常会有多种因素影响回收效率，比如：样本核酸含量、操作方法、洗脱体积等。

常见原因分析：

1. 样品保存不当或样本保存时间过久。

建议：样本保存于-80°C中，并避免反复冻融使用；尽量采用新鲜采集样品进行核酸提取操作。

2. 样品裂解不充分。

建议：请保证样品和裂解工作液彻底混匀，并且在室温(15-25°C)孵育 10min。

3. 洗脱液添加不正确。

建议：确认 RNase-Free ddH<sub>2</sub>O 滴加到了纯化柱膜中间位置，切勿滴加到纯化柱压圈上。

4. Buffer RW2 中没有添加正确体积的无水乙醇。

建议：请按照说明书，在试剂盒使用前，在 Buffer RW2 中添加正确体积的无水乙醇并混匀。

5. 样品用量不合适。

建议：每 500μl Buffer DRL 处理样品量 200μl，样品处理量过多会导致核酸提取量降低。

6. 洗脱体积不合适或洗脱不彻底。

建议：纯化柱的洗脱液体积为 30-50μl；若洗脱效果并不理想，建议在加入预热的 RNase-Free ddH<sub>2</sub>O 后，延长室温放置的时间，例如放置 5-10min。

7. 纯化柱在 Buffer RW2 洗涤之后有乙醇残留。

建议：如果在 Buffer RW2 洗涤，空管离心 2min 后还有乙醇残留，可以在空管离心后将纯化柱置于室温 5min，以充分除去残留乙醇。

## 纯化获得的核酸有降解

纯化得到的核酸的质量和样品的保存、RNase 污染、操作等因素有关。

常见原因分析：

1. 采集样品没有及时保存。

建议：样品在采集后若不及时使用，请立即低温保存于 $-80^{\circ}\text{C}$ 中。提取 RNA 请尽量使用新近采集的样品。

2. 采集样品反复冻融。

建议：采集样品保存过程中要避免冻融(不超过一次)，否则会导致核酸得率降低。

3. 操作间有 RNase 引入或没有佩戴一次性手套、口罩等。

建议：RNA 提取实验最好在单独的 RNA 操作间进行，并在实验前清理好实验桌，实验时佩戴一次性手套、口罩，最大程度上避免 RNase 引入导致的 RNA 降解。

4. 试剂在使用过程中被 RNase 污染。

建议：更换新的 Viral DNA/RNA Isolation Kit 进行相关实验。

5. RNA 操作时所用的离心管、枪头等有 RNase 污染。

建议：确认 RNA 提取时所用到的离心管、枪头、移液器等都是 RNase-Free。

## 纯化获得的核酸影响下游实验

经纯化柱纯化的 DNA 和 RNA，如果盐离子、蛋白质含量过多会影响下游实验，比如：PCR 扩增，逆转录等。

1. 洗脱后的 DNA 和 RNA 有盐离子残留。

建议：确认 Buffer RW2 中添加了正确体积的无水乙醇，并按操作说明的离心转速进行 2 次纯化柱洗涤；如果还有盐离子残留，可在纯化柱加入 Buffer RW2 后，室温放置 5min，再进行离心操作，以最大程度上去除盐离子污染。

2. 洗脱后的 DNA 和 RNA 有乙醇残留。

建议：确认 Buffer RW2 洗涤后，按操作说明的离心转速进行空管离心操作；如果还有乙醇残留，可以在空管离心后再室温放置 5min，以最大程度上去除乙醇残留。

中国 ● 福际      World's Foregene

成都福际生物技术有限公司

电话: 028-83360257, 028-83361257

E-mail: [info@foregene.com](mailto:info@foregene.com)

[Http://www.foregene.com](http://www.foregene.com)

