



ELK Biotechnology

For research use only.

病毒核酸纯化试剂盒

Viral RNAClean Kit

成分	50T	200T	Storage
核酸纯化柱	50 套	200 套	RT
蛋白酶 K 贮存液	1.1 ml	4.4 ml	-20°C
Carrier RNA	400 µl	1.6 ml	-20°C
裂解液 REL	15 ml	60 ml	RT
洗涤液 WBR	60 ml	240 ml	RT
Buffer TE	5 ml	20 ml	RT
说明书	1	1	RT

产品存储

1. 蛋白酶K 贮存液和 Carrier RNA 请置于 - 20°C 贮存.
2. 其他试剂与物品如果储存于室温 (15~25°C), 可在两年内保持使用性能无明显变化; 如果将产品贮存于 2~8°C, 可延长产品的有效期至两年以上.

产品介绍

本产品适合从血浆、无细胞体液 (包括血浆、血清、尿液、CSF 及细胞培养上清)、病毒原液和感染病毒的组织中提取各种病毒 RNA 或病毒 DNA。用本试剂盒最高可从病毒拷贝数为 50 copies/ml 的体液样品 (DNA 病毒) 中检测到病毒核酸。与传统的煮沸法提取病毒 DNA 相比, 检测灵敏度可提高 10-50 倍; 与传统 Trizol 法提取病毒 RNA 相比, 检测灵敏度可提高 5-10 倍。被溶解的病毒中的核酸结合到纯化柱上后, Buffer WBR 洗涤去除残留在纯化柱上 PCR 抑制物, 然后用 Buffer TE 洗脱, 即可用于 PCR 或 RT-PCR 反应.

用户需自备的试剂与物品

1. 无水乙醇
2. 1.5 ml 离心管 (推荐选用 DNase-free & RNase-free 的 1.5 ml 离心管)



ELK Biotechnology

For research use only.

3. 移液器吸头（为避免样品间的污染，请选用含有滤芯的DNase-free & RNase-free 移液器吸头）
4. 一次性手套及防护用品和纸巾
5. 台式小量离心机（可配离心 1.5 ml 离心管和 2 ml 离心管的转子）
6. 水浴锅与旋涡振荡器
7. 可能需要准备生理盐水

使用前准备

- 1) 如果离心机有制冷功能，请将温度设置到 25°C.
- 2) 将水浴锅温度设置到 56°C，并将 Buffer TE 在 56°C 温育.
- 3) 根据试剂瓶标签上的指示在 Buffer WBR 中加入无水乙醇，并在标签的方框中打勾作好“乙醇已加”的标记.
- 4) 根据需要制备的核酸样本数计算所需使用的 Buffer REL 体积（200 µl Buffer REL/管，注意由于加液过程可能存在误差，建议计算时增加 300~500 µl Buffer REL 的体积），按每 1 ml Buffer REL 体积加入 25 µl Carrier RNA 的比例加入 Carrier RNA，旋涡振荡数秒混匀.

样本使用前处理

A 血浆、血清、无细胞体液、病毒原液、尿标本、脑脊液、疱疹液、CSF 及细胞培养上清直接吸取 200 µl 标本进行病毒核酸的分离纯化；如果标本体积不足 200 µl，则补加 PBS 溶液至 200 µl。

* 尽量采用新鲜分离的或者冻融不超过一次的标本进行病毒核酸的分离纯化。

B 咽拭子洗液、生殖道拭子洗液、漱口水

吸取 300 µl 咽拭子洗液、生殖道拭子洗液、漱口水加入到 1.5 ml 离心管中，12000 rpm 离心 5 分钟，吸取 200 µl 上清液进行病毒核酸的分离纯化。

C 感染病毒的组织裂解液：

取 10 mg 感染病毒的组织进行液氮研磨，研磨后的组织加入 300 µl PBS 溶液悬浮，吸取 200 µl 组织悬浮液进行病毒核酸的分离纯化。

D 粪便

在 1.5 ml 离心管中加入 1 ml 生理盐水，用灭菌的牙签挑取约 200 mg 左右（如果粪便呈液体状，直接吸取 200 µl 粪便），加入到 1.5 ml 离心管中，旋涡振荡直至粪便完全分散开来。12000 rpm 离心 1 分钟，取 200 µl 顶部上清液进行病毒核酸的分离纯化。



ELK Biotechnology

For research use only.

操作步骤

1. 在1.5 ml离心管中加入20 μ l蛋白酶K贮存液，再加入200 μ l体液样品。

* 如果体液样品少于200 μ l，补加生理盐水使体液样品终体积为200 μ l。

* 不要将蛋白酶K直接加入到Buffer REL中。

2. 加入200 μ l含Carrier RNA的Buffer REL，旋涡振荡约15秒混匀。

3. 将离心管置于56 $^{\circ}$ C水浴10分钟。

4. 加入320 μ l无水乙醇，温和地翻转4~6次混合均匀。

* 为避免打开管盖时样品间的交叉污染，开盖前可低速离心数秒，使管盖上的溶液沉降到管底。

5. 吸取步骤4中的溶液加入到核酸纯化柱中（核酸纯化柱置于2 ml离心管中），盖上管盖，12000 rpm离心30秒。

* 注意不要将溶液沾到纯化柱管口的边缘上，以免后续的洗涤步骤不能洗净纯化柱。

6. 弃2 ml离心管中的滤液，将核酸纯化柱放回到2 ml离心管中，在核酸纯化柱中加入700 μ l Buffer WBR，盖上管盖，12000 rpm离心30秒。

* 滤液无需彻底弃尽，如果要避免粘附在离心管管口的滤液对离心机的污染，可将2 ml离心管在纸巾上倒扣拍击一次。

* 确认在Buffer WBR中已经加入无水乙醇。

7. 弃2 ml离心管中的滤液，将核酸纯化柱放回到2 ml离心管中，14000 rpm离心1分钟。

* 如果离心机的离心速度达不到14000 rpm，则用最高速离心2分钟。

* 请勿省略该步骤，否则可能因所纯化的核酸中混有乙醇而影响后续的PCR效果。

8. 弃2 ml离心管，将核酸纯化柱置于一个洁净的1.5 ml离心管中，在纯化柱的膜中央加入50 μ l 56 $^{\circ}$ C预热的Buffer TE，盖上管盖，室温静置1分钟，12000 rpm离心30秒。

* 如果离心机没有防泄漏的盖子，请将离心条件改为8000 rpm离心1分钟，以免管盖脱落而损伤离心机。

9. 弃纯化柱，将病毒核酸储存于-20 $^{\circ}$ C备用。