**病毒DNA/RNA提取试剂盒**

**（离心柱型）**

**货号：KTSM2605**

**■ 产品简介：**

本试剂盒适合从血清血浆、组织提取液、口腔拭子、尿液、无细胞体液和病毒培养液等样品中快速提取病毒的DNA/RNA，若单纯提取病毒RNA，建议使用RNase-free的DNaseⅠ进行处理即可。在提取过程中不需要用到酚氯仿抽提和耗时的醇类沉淀，所获得的核酸完整型好、纯度高。若想长期保存纯化后的DNA/RNA，建议加入适当的RNA酶抑制剂并-80℃保存。

**■ 主要成分**：

|  |  |
| --- | --- |
| **产品组成** | **KTSM2605（50次）** |
| 缓冲液GA | 15 ml |
| 漂洗液PD | 12 ml |
| 漂洗液PW | 15 ml |
| RNase-free Water | 15 ml |
| 蛋白酶K | 1 ml |
| Carrier RNA | 50 µl |
| RNase-free吸附柱R1（含2 ml收集管） | 50个 |
| RNase-free离心管（1.5 ml） | 50个 |

**■ 保存条件**：

试剂盒室温（15-25℃）保存。Carrier RNA，蛋白酶K保存于-20℃。

**■ 自备试剂**：

无水乙醇。

**■ 注意事项：**

1． 整个过程需要在无RNase的环境下操作，由于RNA酶普遍存在，在样品提取过程中都要戴手套。
2． 提取过程中须使用一次性无 RNase 的无菌塑料耗材。
3． 为了得到高纯度的核酸，最好使用新鲜液体标本并且避免反复冻融，否则会影响提取效果。
4． 第一次使用前请在漂洗液中加入指定量的无水乙醇充分混匀，加入后请及时在方框内打勾标记，以免多次加入！
5. 所有的离心步骤均在室温下进行（15-25℃）。

**■ 操作步骤：**

1. 取200 µl含病毒样本（全血、血清、血浆、精液及其他组织液或者体液等），放入1.5 ml离心管。
2. 加入200 µl缓冲液GA和1 µl Carrier RNA，震荡15 sec，充分混匀，再加入20 µl蛋白酶K溶液，颠倒轻摇充分混匀，剧烈颠倒混匀，65℃水浴 20 min。
3. 加入250 µl无水乙醇，此时可能会出现絮状沉淀。盖上管盖并涡旋振荡15 sec，彻底混匀。在室温（15-25℃）放置5 min。
**注意：如果周围环境高于25℃，乙醇需要再在冰上预冷后再加入。**
4. 简短离心以收集附着在管壁及管盖的液体。
5. 仔细将离心管中的溶液和絮状沉淀全部转移至 RNase-free 吸附柱R1，盖上管盖，8,000 rpm离心1 min，弃废液，将吸附柱放回收集管中。
**注意：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. 小心打开吸附柱盖子，加入500 µl缓冲液PD（**使用前请先检查是否已加入无水乙醇**），8,000 rpm离心1 min，弃废液，将吸附柱放回收集管。
7. 小心打开吸附柱盖子，加入600 µl漂洗液RW（**使用前请先检查是否已加入无水乙醇**），盖上管盖，静置2 min，8,000 rpm 离心1 min，弃废液，将吸附柱放回收集管。
8. 重复步骤7。
9. 小心打开吸附柱盖子，加入500 µl无水乙醇，盖上管盖，8,000 rpm离心1 min，弃废液。
**注意：乙醇的残留可能会对后续实验造成影响。**
10. 将吸附柱放回收集管中，12,000 rpm离心3 min，使吸附膜完全变干，弃废液。
11. 将吸附柱放入一个新的 RNase-free 离心管中，小心打开吸附柱的盖子，室温放置3 min，使吸附膜完全变干。向吸附膜的中间部位悬空滴加20-100 µl RNase-free Water，盖上盖子，室温放置5 min。12,000 rpm离心1 min。

**注意：确保洗脱液（RNase-free Water）在室温平衡后再使用。如果加入洗脱液的体积很小(小于50 µl)，为了将膜上的 DNA/RNA 充分洗脱下来，应注意将洗脱液加到膜的中央位置。洗脱体积可以根据后续的实验要求灵活处理。**