

FastPure Viral DNA/RNA Kit Handbook

FastPure 病毒 DNA/RNA 提取试剂盒说明书（离心柱型）

产品组成

FastPure Viral DNA/RNA Kit		
产品编号	EK-1401-50T	EK-1401-100T
纯化次数	50 次	100 次
Buffer BB	25mL	50mL
Buffer IRB	17mL	34mL
Buffer WB	12mL	24mL
Proteinase K Solution	1.1mL	2.2mL
Buffer EB	15mL	30mL
核酸吸附柱	50	100
2 mL 收集管	50	100
使用手册	1	1

产品介绍

本产品适合于 200 μ L 体液、血清、血浆、浸泡液、组织匀浆液、培养液上清、拭子等低细胞样本中 提取病毒总核酸，试剂盒基于硅胶柱纯化技术，提取过程中无需使用有毒的酚氯仿抽提，也无需进行耗时的醇类沉淀，整个提取过程只需 20 分钟，可用于含>100U/mL 肝素的样品。得到的核酸可直接用于 PCR，RT-PCR 检测等实验。

存储条件

Proteinase K 保存时需置于-20 $^{\circ}$ C，其余可在室温(15~25 $^{\circ}$ C)保存 12 个月。

需要额外准备的材料

- 无水乙醇（96%-100%）
- 1.5mL 无酶离心管
- 小型高速离心机（~13000rpm）
- 水浴锅

开始前注意事项 请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项。

- 可提取样品类型为：200 μ L 血清/血浆/全血/拭子稀释液样本
- 样品应避免反复冻融，否则会导致提取的核酸片段较小且提取量下降。
- 若 Buffer BB 或 Buffer IRB 中有沉淀，可在 37 $^{\circ}$ C 水浴中重新溶解，摇匀后使用。
- Buffer IRB 中提前加入无水乙醇。
- Buffer WB 中提前加入无水乙醇。
- 水浴锅温度设置至 72 $^{\circ}$ C。
- 该产品若用作 RNA 病毒核酸提取，请按照 RNA 提取操作要求避免 RNase 污染。Buffer EB 已经过除酶处理，吸取时请使用无酶枪头；如若使用时污染，请更换无酶水作为洗脱液。

操作步骤:

1. 在 1.5mL 无酶离心管中依次加入 200 μ L 待提取样品, 200 μ L Buffer BB, 20 μ L 蛋白酶 K 溶液后立即混匀, 置于 72 $^{\circ}$ C 水浴中孵育 10 分钟。

如果样品量小于 200 μ L, 请添加适当体积的 0.9% 氯化钠(或 PBS)溶液, 使样品的总量达到 200 μ L。

2. 将步骤 1 所得溶液加入 100 μ L Buffer BB 并混匀。
3. 把吸附柱套在 2mL 收集管中。将上个步骤所得溶液加入柱中, 8000 \times g 离心 1 分钟。离心完后倒掉收集管中的废液。
4. 向吸附柱中加入 500 μ L Buffer IRB (使用前请确认按要求加入无水乙醇), 8000 \times g 离心 1min, 离心完后倒掉收集管中的废液。
5. 向吸附柱中加入 500 μ L Buffer WB (使用前请确认按要求加入无水乙醇), 8000 \times g 离心 1 分钟, 离心完后倒掉收集管中的废液。
6. 重复步骤 5 一次。
7. 倒掉收集管中的废液后将吸附柱再次套入收集管中, 13000 \times g 离心 2 分钟以除尽 Buffer WB。将吸附柱套入新的 1.5mL 无酶离心管中并置于室温放置 5-10min 彻底晾干乙醇。

注意: Buffer WB 中的乙醇残留会影响后续的酶反应实验。

8. 向吸附柱膜中间位置悬空滴加 50 μ L Buffer EB (或无酶水), 室温静置 2min 后, 12000 \times g 离心 2min 收集核酸溶液。丢弃柱子, 盖上 EP 管盖子置于-20 $^{\circ}$ C 保存。

注意: 洗脱体积不应小于 30 μ L, 体积过少影响回收效率。洗脱液的 pH 值对于洗脱效率有很大影响。

为了提高核酸的回收量, 可将离心得到的溶液重新加回离心吸附柱中, 室温放置 2min, 13000g 离心 2min, 将核酸溶液收集到离心管中。

常见问题:

1. 核酸产量低或纯度低
 - 试剂保存温度: Proteinase K 保存时需置于-20 $^{\circ}$ C, 其余可在室温(15~25 $^{\circ}$ C)保存
 - 未添加乙醇: Buffer WB 和 Buffer IRB 使用前添加乙醇
 - 试剂与样未完全混匀: 添加每种试剂后, 确保样品与试剂充分混匀。
 - 洗脱效果不佳: 如果使用自己的水或缓冲液从滤管中洗脱核酸, 请确保其 pH>7, 建议 pH 为 8.0。