

# 血液病毒 DNA/RNA 小提试剂盒 (BW-VR6511)

## 目录

产品构成 .....	2
产品说明 .....	2
贮存和产品稳定性 .....	2
实验前准备 .....	2
要点 .....	3
实验前准备材料 .....	3
安全信息 .....	3
操作步骤 .....	3
常见问题分析 .....	5
购买须知 .....	6

## 产品构成

Catalog#	BW-VR6511-00	BW-VR6511-01	BW-VR6511-02
Preps	4	50	250
Buffer LY	5 mL	30 mL	130 mL
L Solution	50 $\mu$ L	120 $\mu$ L	520 $\mu$ L
Wash Buffer*	1 mL	12 mL	50 mL
Buffer RB	5 mL	30 mL	130 mL
DEPC-treated ddH <sub>2</sub> O	500 $\mu$ L	10 mL	30 mL
MV Micro Columns	4	50	250
2 mL Collection Tubes	8	100	500
1.5 mL RNase-free Microfuge Tubes	4	50	250
User Manual	1	1	1

\*使用前需要向 Wash Buffer 中加入(BW-VR6511-00) 4 mL、(BW-VR6511-01) 48 mL、(BW-VR6511-02) 200 mL 96-100%乙醇。

## 产品说明

血液病毒 DNA/RNA 小提试剂盒适用于从血浆、血清、全血、尿液和细胞培养液上清中分离病毒总 DNA/RNA，提供了一种简便、可靠的方法。可从甲型肝炎、丙型肝炎和艾滋病毒中分离核酸。分离得到的 DNA/RNA 可用于 PCR、RT-PCR 等下游应用。

## 贮存和产品稳定性

本试剂盒自生产之日起可保存 12 个月。L Solution 请于-20°C 储存，其他试剂及用品可保存于室温（15-25°C）。

## 实验前准备

仔细阅读用户手册，准备该实验需要的所有试剂和材料，熟悉每个步骤，并特别注意以下内容。

## 要点

- **Wash Buffer:** 使用前请将 4 mL (BW-VR6511-00)或 48 mL (BW-VR6511-01)或 200 mL (BW-VR6511-02) 100%乙醇加入至 Wash Buffer 瓶内。
- **Buffer LY:** 计算并分装实验所需的 Buffer LY, 并以 100%的体积向 Buffer LY 中加入 $\beta$ -巯基乙醇, 或者每 1 mL Buffer LY 加入 20  $\mu$ L DTT (2M) 。
- **L Solution:** 每 1 mL Buffer LY/ $\beta$ -me 混合液加入 4  $\mu$ L L Solution。

## 实验前准备材料

- 小型台式离心机
- 1.5 mL 无菌离心管
- 100%乙醇

## 安全信息

使用化学品时, 请穿戴合适的实验室外套, 一次性手套和护目镜。有关详细信息, 请咨询相关材料安全数据表。

## 操作步骤

此实验步骤适用于 150  $\mu$ L 的实验样本。样本小于 150  $\mu$ L, 应使用磷酸盐缓冲液 (PBS) 调整到 150  $\mu$ L, 低病毒效价的样本应浓缩至 150  $\mu$ L。如果样本是 300 $\mu$ L, 则相应的 Buffer LY 和其他试剂应按比例增加, 但 Buffer RB 和 RNA Wash Buffer 用于清洗的步骤不需要增加。

1. 据上述内容准备 **Buffer LY/ $\beta$ -me/L Solution** 混合液, 混合液可于 2-8 $^{\circ}$ C 储存 48 h。
2. 吸取 150  $\mu$ L 血浆、血清、体液或其他样品, 置于 1.5 mL 离心管, 加入 **500  $\mu$ L Buffer LY/ $\beta$ -me/L Solution**。

**注:** 确保使用前在 Buffer PY 内已加入 $\beta$ -巯基乙醇或者 DTT。

3. 涡旋混匀, 室温静置 10min。
4. 加入 1 倍体积的 100%乙醇 (例如: 500  $\mu$ L 100%乙醇加入至 500  $\mu$ L 裂解液中), 吹吸 5 次以混匀。
5. 将 **MV Micro Column** 插入至 **2 mL Collection Tube**, 转移上述混合液至 **MV Micro**

**Column**, 12,000 rpm 离心 1 min。弃滤液和 **2 mL Collection Tube**, 将 **MV Micro Column** 放入一个新的 **2 mL Collection Tube**。

6. 加入 **500  $\mu$ L Buffer RB**, 12,000 rpm 离心 1 min, 弃滤液。
7. 加入 **500  $\mu$ L Wash Buffer**, 12,000 rpm 离心 30 s, 弃滤液。
8. 重复步骤 **7**。
9. 空离, 打开柱盖, 12,000 rpm 离心 2 min。

**注:** 去除残留乙醇对于洗脱至关重要。

10. 将 **MV Micro Column** 转移至一个无核酸酶的 1.5 mL 离心管 (**1.5 mL RNase-free Microfuge Tube**), 在膜中央加入 **35-50  $\mu$ L DEPC-treated ddH<sub>2</sub>O**, 12,000 rpm 离心 1 min。将洗脱下来的病毒 DNA/RNA 储存于 -20°C。

11. 可选步骤: 将洗脱液再次加入至 column, 进行二次洗脱。

**注:** 第一次洗脱通常会收获 60-70% 的 DNA/RNA, 而二次洗脱会收获剩余 20-30% 的 DNA/RNA。

## 样本浓缩步骤

血浆、血清、尿液、脑脊液、骨髓和其他体液的病毒滴度通常很低。在这些情况下, 我们推荐将集中的样本 5 mL 的样本浓缩至 150  $\mu$ L。

### 要点

使用过滤柱, 如 Amicon-4、UFC810024、Microsep 100、Filtron: 3.5 mL, cat. no. OD100C40、Ultrafree®-CL 或者其他品牌。

### 步骤

1. 根据说明, 加入最多 4 mL 的样品至过滤柱。
2. 根据说明书指示离心, 至最终得到 150  $\mu$ L 样本。  
一些样本, 特别是血浆, 由于高粘度可能很难浓缩至 150  $\mu$ L。所以可以增加离心时间至 2 h。
3. 将浓缩的样本 150  $\mu$ L 转移至离心机管中, 并按照病毒 DNA/RNA 提取步骤进行实验。

## 常见问题分析

问题	可能原因	建议
A <sub>260</sub> /A <sub>280</sub> 比值低	蛋白质污染	使用苯酚：氯仿抽提，可能会损失至多 40% 的 RNA。
	异硫氰酸胍污染	加入 2.5 倍体积的乙醇和 0.1 M NaCl（终浓度）沉淀 RNA。 -20℃ 孵育 30 min， 4℃， 13,000 rpm 离心 15 min。用 DEPC-treated ddH <sub>2</sub> O 重悬 RNA 沉淀。
得率低	样品中 RNA 降解	收集样品后，请立即置于液氮中冷冻，并于 -80℃ 储存。
	超过 MV Micro Column 最大上样量	减少初始样品使用量。
	Wash Buffer 中使用前忘记加入乙醇	使用前按要求在 Wash Buffer 内加入乙醇。
基因组污染	RT-PCR 中使用太多 RNA 样品	RT-PCR 反应中，减少 RNA 使用量至 50-100 ng。

## 购买须知

根据说明书使用时，本产品应按其标签和倍沃的文献中所述执行。倍沃不提供任何其他类型的明示或暗示，包括但不限于适销性或适合某一特定目的的保证。在选择倍沃时，违反本保证的，倍沃唯一的义务和买方的唯一补救措施是更换产品，倍沃应当没有任何直接或间接的，或使用引起的附带损害，或无法使用它产品的责任。如需技术支持或了解更多产品信息，请致电与我们联系，或访问我们的网站



全国服务热线: [400-115-2855](tel:400-115-2855)

技术邮箱: [tech@beiwobiomedical.com](mailto:tech@beiwobiomedical.com)

市场邮箱: [market@beiwobiomedical.com](mailto:market@beiwobiomedical.com)

倍沃官网: [www.beiwobiomedical.com](http://www.beiwobiomedical.com)