

## AxyPrep 体液病毒 DNA/RNA 小量试剂盒

本试剂盒采用制备膜选择性地吸附 DNA/RNA 的方法达到快速纯化病毒 DNA/RNA 的目的。适合于从 200  $\mu$ l 体液(包括血浆, 血清, 腹水, 培养细胞上清液, 脑脊髓液, 尿液, 脱落细胞悬浮液等)中提取高纯的病毒 DNA/RNA, 用于 PCR/RT-PCR、测序、体外转录与翻译、限制性内切酶消化、细菌转化等分子生物学实验。

### 一、试剂盒组成、贮存、稳定性

Cat. No.	AP-MN-BF-VNA-4	AP-MN-BF-VNA-50	AP-MN-BF-VNA-250
制备次数	4 preps	50 preps	250 preps
制备管	4	50	250
2 ml 离心管	8	100	500
1.5 ml 离心管	4	50	250
Buffer V-L	1 ml	12 ml	60 ml
Buffer V-N	1 ml	4 ml	20 ml
Buffer W1A concentrate	2.4 ml	24 ml	120 ml
Buffer W2 concentrate	2.4 ml	24 ml	72 ml
Buffer TE (nuclease-free)	1 ml	4 ml	20 ml
说明书	1	1	1

**Buffer V-L:** 病毒裂解液, 室温密闭贮存。

**Buffer V-N:** 蛋白去除液, 室温密闭贮存。

**Buffer W1A:** 洗涤液, 使用前, 按试剂瓶上指定的体积加入无水乙醇 (可用 100%乙醇或 95%乙醇), 混合均匀, 室温密闭贮存。

**Buffer W2 concentrate:** 去盐液, 使用前, 按试剂瓶上指定的体积加入无水乙醇 (可用 100%乙醇或 95%乙醇), 混合均匀, 室温密闭贮存。

**Buffer TE (nuclease-free):** 5 mM Tris-HCl, 0.1 mM EDTA, pH 8.5。无 DNA/RNA 酶活性, 室温密闭贮存。

### 二、注意事项

1. 病毒具有很强的感染能力, 操作前必须准备好各种防御措施。
2. 操作时严格按操作步骤进行, 废物必须放入含消毒液的废物缸, 以免污染实验室和工作人员。
3. 为避免其它核酸的污染而出现假阳性, 必须使用不含 DNA 和 RNA 的离心管、吸管、Tip 头、试剂和手套, 工作人员戴口罩进行操作。

4. Buffer V-L、Buffer V-N 和 Buffer W1A 含刺激性化合物，操作时要戴乳胶手套和眼镜，避免沾染皮肤、眼睛和衣服，谨防吸入口鼻。若沾染皮肤、眼睛，要立即用大量清水或生理盐水冲洗，必要时寻求医疗咨询。

### 三、实验准备

1. 第一次使用时，在 Buffer W1A 和 Buffer W2 concentrate 中按试剂瓶上指定的体积加入无水乙醇。
2. 准备异丙醇（1%冰乙酸）：在 99 ml 异丙醇中加 1 ml 冰乙酸，混合均匀，室温密闭贮存。
3. 如果提取的是病毒 RNA，请选用 RNase free Tip 头和 1.5 ml 离心管或将 Tip 头和 1.5 ml 离心管用 0.1% DEPC 水处理后再使用，以避免纯化过程中病毒 RNA 被 RNase 所降解。纯化病毒 RNA 时，建议在洗脱液中加入 RNasin。

### 四、操作步骤

以下操作步骤是从 200  $\mu$ l 血清中提取病毒 DNA/病毒 RNA 为例而设计的，从其他体积的样品中提取病毒核酸可按比例加 Buffer V-L，Buffer V-N 和异丙醇（1%冰乙酸），以后步骤中的 Buffer 用量不变。

1. 收集 200  $\mu$ l 样品，转入 1.5 ml 离心管中。
  - \* 如果样品中有细菌或细胞污染，可先 12,000 $\times$ g 离心 5 min，取上清 200  $\mu$ l 作为样品。
2. 加 200  $\mu$ l Buffer V-L，漩涡振荡混合均匀，静置 5 min。
3. 加 75  $\mu$ l Buffer V-N，漩涡振荡混合均匀，12,000 $\times$ g 离心 5 min。
4. 将上清转移到新的 2 ml 离心管（试剂盒内提供）中，加 300  $\mu$ l 异丙醇（1%冰乙酸），上下倒置 6-8 次，混合均匀。
5. 将制备管置于 2 ml 离心管（试剂盒内提供）中，取步骤 4 中的混合液移入制备管中，6,000 $\times$ g 离心 1 min。
6. 弃滤液，将制备管置回到 2 ml 离心管中，加 500  $\mu$ l Buffer W1A，室温静置 1 min。12,000 $\times$ g 离心 1 min。
  - \* 确认在 Buffer W1A concentrate 中已按试剂瓶上指定的体积加入无水乙醇。
7. 弃滤液，将制备管置回到 2 ml 离心管中，加 800  $\mu$ l Buffer W2，12,000 $\times$ g 离心 1 min。
  - \* 确认在 Buffer W2 concentrate 中已按试剂瓶上指定的体积加入无水乙醇。
8. 将制备管置回到 2 ml 离心管中，12,000 $\times$ g 离心 1 min。
9. 将制备管置于洁净的 1.5 ml 离心管（试剂盒内提供）中，在制备管膜中央加 40-60  $\mu$ l Buffer TE（nuclease-free），室温静置 1 min。12,000 $\times$ g 离心 1 min 洗脱 DNA/RNA。
  - \* 纯化病毒 RNA 时，建议在洗脱液中加入 RNasin 浓度为 1 单位/ $\mu$ l。

## 五、流程图

