

## HiPure Viral RNA/DNA 96 Kit

病毒总核酸抽提试剂盒

### 产品简介

本产品适合于从血清、血浆、牛奶、体液、培养液、组织匀浆液、拭子等样品中提取病毒RNA和DNA。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。该产品已经成功地提取了乙肝A/C、丙肝RNA、SARS以及HIV等。获得的RNA可直接用于RT-PCR、Northern杂交、以及各种病毒检测等。获得的DNA可直接用于PCR、荧光定量PCR、病毒检测等。

### 产品组份

产品编号	R4175-01F	R4175-02F
纯化次数	1 x 96 次	4 x 96 次
HiPure Viral Plate (2151)	1	4
1.6ml Collection Plate	1	4
0.5ml Elute Plate	1	4
Seal-Film	2	8
Proteinase K Solution	1.2 ml	5 ml
Buffer VLF	50 ml	180 ml
Buffer CW	150 ml	2 x 300 ml
Nuclease Free Water	15 ml	60 ml

## 保存条件

本产品可在室温(15-25℃)保存 18 个月，长期保存时需置于 2-8℃。

## 实验步骤(离心方案)

1. 在 2.2ml 深孔板(自备)中，预先加入 400 $\mu$ l Buffer VLF [可预分装]。
2. 转移 200 $\mu$ l 待检样品和 10 $\mu$ l Proteinase K 至装有 Buffer VLF 的板子中，贴上封口膜，颠倒混匀 6-8 次，短暂离心收集孔口液滴。室温放置 10 分钟。
3. 取出 HiPure Viral Plate 放置于 1.6ml 收集板上，转移全部混合液至 HiPure Viral Plate。3,000~4,000  $\times$  g 离心 3 分钟。
4. 倒弃滤液，把 HiPure Viral Plate 放回 1.6ml 收集板上，加入 650 $\mu$ l Buffer CW 至结合板。3,000~4,000  $\times$  g 离心 3 分钟。
5. 倒弃滤液，把 HiPure Viral Plate 放回 1.6ml 收集板上，加入 650 $\mu$ l Buffer CW 至结合板。3,000~4,000  $\times$  g 离心 3 分钟。
6. 倒弃滤液，把 HiPure Viral Plate 放回 1.6ml 收集板上，3,000~4,000  $\times$  g 离心 10 分钟。
7. 取下 HiPure Viral Plate，室温放置 10~15 分钟晾干 96 孔板。
8. 将 HiPure Viral Plate 至新的 0.5ml 收集管上，加入 75~100 $\mu$ l Nuclease Free Water 至的膜中央。室温静置 3 分钟，3,000~4,000  $\times$  g 离心 3 分钟。
9. 弃去 96 孔板，贴上封口膜，把 DNA/RNA 保存于-20℃。

## 实验步骤 (抽滤方案)

1. 在 2.2ml 深孔板(自备)中，预先加入 400 $\mu$ l Buffer VLF [可预分装]。
2. 转移 200 $\mu$ l 待检样品和 10 $\mu$ l Proteinase K 至装有 Buffer VLF 的板子中，贴上封口膜，颠倒混匀 6-8 次，短暂离心收集孔口液滴。室温放置 10 分钟。
3. 把废液收集槽放在真空抽滤盒的底部的内槽中。盖上真空抽滤盒上盖，把 HiPure Viral Plate 放在上盖的内槽中。
4. 连接好真空泵和抽滤盒，把第 2 步获得的混合液转移至结合板中。打开真空泵，压紧结合板。当压力开始上升，松开手，抽滤 2 分钟。
5. 关闭真空泵，当压力降至零度时，每孔中加入 650 $\mu$ l Buffer CW，抽滤 2 分钟。
6. 关闭真空泵，当压力降至零度时，每孔中加入 650 $\mu$ l Buffer CW，抽滤 5 分钟。
7. 关闭真空泵，当压力降至零度时，取下结合板，在一叠吸水纸上用力垂直拍打 7-8 次使孔壁的液滴流出。
8. 把结合板重新放回抽滤盒中。打开真空泵，继续抽滤 10~15 分钟。
9. 移开抽滤盒的上盖，倒弃废液槽中的液体。把 500 $\mu$ l 收集板放在抽滤盒的内槽中，盖上抽滤盒的上盖，调整结合板的位置，使之结合板底部的每个突出部分都插入收集板。
10. 加入 100~150 $\mu$ l Nuclease Free Water 至结合板的膜中央，静置 2 分钟。打开真空泵抽滤 3 分钟，关闭真空泵。
11. 取出洗脱板上贴上封口膜，把质粒保存于 4 $^{\circ}$ C 或 -20 $^{\circ}$ C。

## 常见问题

### 1. 柱子堵塞

- **样品用量太多**
  - 抗凝血液：样品量控制在 50 $\mu$ l。尽量血浆、血清或其它无细胞样品。
  - 组织样本：用生理盐水充分匀浆，10,000  $\times$  g 离心 3 分钟取上清进行抽提。
  - 精液样品：用等体积生理盐水稀释，10,000  $\times$  g 离心 3 分钟取上清进行抽提。
- **样品裂解不充分**：样品与 Buffer VLF 混匀不充分。重新提取，加入 Buffer VLF 后先颠倒混匀 3~5 次，然后以最高速度涡旋让样品与 Buffer VLF 充分混匀。

### 2. 下游应用结果不理想

- **样品被反复解冻**：避免反复冻溶样品。推荐使用新鲜样品或只解冻过一次的样品。
- **Nuclease Free Water 被污染**：更换新的 Nuclease Free Water 或 DEPC 处理水。
- **乙醇残留**：柱子在洗脱前，需要空甩去除乙醇。对于敏感的应用，柱子在洗脱后，打开柱子的盖子，放置 10~15 分钟让乙醇彻底挥发。