

描述: 该试剂盒采用经典的萃取法进行细菌和病毒 DNA/RNA 的核酸共提取, 因此获得高纯度和高产量的核酸分子。结合高性能的硅胶吸附柱芯, 从而快速完成 DNA/RNA 的共提取, 用时<8min。其可以从多种类型样本中进行高质量的 DNA 和 RNA 的共提取。样本类型不仅限于: 动物组织、细胞、粪便等样本 (不适用多糖多酚含量高的植物样本), 还适用于全血、血清、血浆、拭子液、各种冲洗液等液体样本。

应用本试剂盒提取的 DNA/RNA 可直接用于反转录、One-Step RT-PCR、NGS 测序等多种分子生物学实验。

组分

组分	4T	50T
8min DNA/RNA11	0.25 ml	3 ml
8min DNA/RNA12	2.5 ml	27 ml
氯仿替代物 B1	2.5 ml	30 ml
Washing Buffer(含乙醇)	5 ml	55 ml
Nuclease Free H ₂ O	0.5 ml	6 ml
吸附柱芯(NP30)	4 套	50 套
2 ml 吸附柱外套管	4 套	50 套
1.5 ml 收集管	4 套	50 套

注意事项与准备工作:

- 1.1 Washing Buffer 中含有 70%乙醇, 使用时远离火源。
- 1.2 氯仿替代物 B1 为管制品氯仿替代物(该溶液上层覆盖有水相, 使用时吸取下层红色油相), 沸点>150℃, 燃点>450℃, 毒性低于氯仿, 但操作仍建议于通风橱中进行。
- 1.3 整套吸附柱的准备: 提前将吸附柱芯放入到 2 ml 吸附柱外套管中, 待用。
- 1.4 放置于室温, 可保存 2 年。

病毒液的制备

- 2.1 组织样本 (肉、粪便、饲料等): 50~150 mg, 加入 0.5 ml 生理盐水研磨后, 离心 1min, 上清液作为病毒液, 待用。
- 2.2 拭子: 棉签蘸取口水、肛门、眼鼻口分泌物, 将棉签放入到 1 ml 生理盐水溶液中, 摇晃 10 次, 上清液作为病毒液, 待用。
- 2.3 尿液、痰液、胸腹水、胃冲洗液: 直接取不含块状物液体即可。如有块状物, 可短离心去除之。
- 2.4 抗凝全血、血清、血浆: 用等体积的 ddH₂O 稀释 1 倍后待用。

操作方法

- 3.1 在 1.5 ml EP 管中, 加入 250 μ l 的上述病毒液, 并加入 50 μ l 的 DNA/RNA11 和 500 μ l 的 DNA/RNA12 (此时总体积为 800 μ l)。旋涡 15s 后, 室温静置 1min 进行裂解。
- 3.2 裂解完毕后, 加入 500 μ l 的氯仿替代物 B1 (注意: 吸取下层红色有机相), 旋涡混合 15s。
- 3.3 上述溶液置于离心机上, 13000rpm 离心 1min。此时分为 3 层, 上层(无色水相)、中间层(蛋白及组织碎片)、下层(红色有机相)。
- 3.4 吸取上层水相约 550 μ l 到整套吸附柱芯中。并加入 250 μ l 的异丙醇, 此时总体积约 800 μ l。盖上吸附柱管盖, 上下颠倒混合 2~3 次。(注意不要吸入中间层白色物质)。
- 3.5 将吸附柱放入离心机中, 13000rpm 离心 15s。将外套管中的过柱液再次倒入到吸附柱芯中, 离心 15s (再次过柱, 会提高产量 25%, 对产量要求不高的情况下, 可忽略此步骤)。
- 3.6 倒掉外套管中的过柱液, 此时核酸已经吸附在柱芯上。向吸附柱芯中加入 500 μ l Washing Buffer, 盖上管盖, 并上下颠倒 2~3 次 (进行吸附芯和管壁洗涤), 放入离心机。13000rpm 离心 15s。倒掉外套管中的废液。并重复此洗涤步骤一次。
- 3.7 将全套吸附柱重新放回离心机, 13000rpm 空离心 1min, 将吸附柱芯残留的乙醇彻底甩干。
- 3.8 将吸附柱芯从 2 ml 吸附柱外套管中取出, 并放入到新的 1.5 ml 收集管中, 向吸附柱芯中加入 60~100 μ l 的 Nuclease Free H₂O, 13000rpm 离心 1min, 洗脱液即为 DNA/RNA, 冷冻保存。