

天
净
沙
系
列

CAT#:970701-50
常温运输,4℃保存

BINGENE

病毒 DNA 纯化试剂盒（过柱法）

使用手册 V1.0

江苏天净沙基因诊断技术有限公司

网址: www.bingene.com; 电话: 400-6005850; 电邮: order@bingene.com

<p>产品及特点</p>	<p>本产品是在天泽基因一管式病毒 DNAout 的基础上开发的、专门用于从血清(血浆)等液体样品及拭子(咽拭子、鼻拭子、口腔拭子、阴道拭子等)中提取微量病毒 DNA 的产品,它具有下列特点:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 操作简单,整个过程只需要 20 分钟左右,不需要额外在洗柱液中补加乙醇。 2. 灵敏度高,通过 PCR 检测到的最终灵敏度可以达到 30-50 拷贝/mL。 3. 安全无毒,不需要使用苯酚和氯仿等有机溶液。 4. 如果加上病毒离心富集步骤,最多可以处理 1.5 mL 液体病毒样品。 5. 与 PCR 和荧光 PCR 兼容。 6. 价廉物美,性价比远高于国外同类产品。 7. 适用于各种材料,包括血清、血浆、脑脊液、尿液、粪便、培养细胞上清液等无细胞材料。 																																
<p>规格及成分</p>	<table border="1" data-bbox="550 792 1385 1234"> <thead> <tr> <th>成份</th> <th>编号</th> <th>规格</th> <th>包装材料</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>DNA 病毒裂解液</td> <td>3674a</td> <td>30 mL</td> <td>30 mL 本色瓶</td> </tr> <tr> <td>上柱结合液</td> <td>190602</td> <td>40 mL</td> <td>60mL 本色瓶</td> </tr> <tr> <td>离心吸附柱</td> <td>60911</td> <td>50 套</td> <td>塑料袋</td> </tr> <tr> <td>通用洗柱液</td> <td>60408</td> <td>50 mL</td> <td>60mL 本色瓶</td> </tr> <tr> <td>DNA 洗脱液 3.0</td> <td>170603</td> <td>10 mL</td> <td>10 mL 本色瓶</td> </tr> <tr> <td>使用手册</td> <td>970701sc</td> <td>1 份</td> <td>无</td> </tr> </tbody> </table>					成份	编号	规格	包装材料	DNA 病毒裂解液	3674a	30 mL	30 mL 本色瓶	上柱结合液	190602	40 mL	60mL 本色瓶	离心吸附柱	60911	50 套	塑料袋	通用洗柱液	60408	50 mL	60mL 本色瓶	DNA 洗脱液 3.0	170603	10 mL	10 mL 本色瓶	使用手册	970701sc	1 份	无
成份	编号	规格	包装材料																														
DNA 病毒裂解液	3674a	30 mL	30 mL 本色瓶																														
上柱结合液	190602	40 mL	60mL 本色瓶																														
离心吸附柱	60911	50 套	塑料袋																														
通用洗柱液	60408	50 mL	60mL 本色瓶																														
DNA 洗脱液 3.0	170603	10 mL	10 mL 本色瓶																														
使用手册	970701sc	1 份	无																														
<p>运输及保存</p>	<p>常温运输及保存, DNA 病毒裂解液长期(1 月以上)放置时需要放 4℃,有效期一年。</p>																																
<p>自备试剂</p>	<p>无,但需要自备 RNase-free 的 1.5 mL 离心管(耗材)。</p>																																
<p>使用方法</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. 如果有 N 个样品,标记 N+2 个 1.5-2 mL 螺旋盖塑料离心管(如 Sarstedt CAT#:782.694.006),多出的一个为阳性对照,一个为阴性对照。为避免污染,建议不要使用压盖式塑料离心管。在每个管上做个标记,以在后续操作时区别向心面和离心面。然后在离心管中分别加入 0.2 mL 液体样品(血清、血浆、尿液、脑脊液、唾液、眼泪等等),阳性对照和阴性对照。 <ol style="list-style-type: none"> 1.1、如果是口腔拭子、咽喉拭子等各种拭子样品,则将拭子放入 0.2mL 自备生理盐水中挤压出液体,然后取 0.2mL 进行提取。 1.2、如果是粪便等半固定样品,则取约 0.3mL 的样品,加入 0.3mL 自备生理盐水,震荡重悬,离心取 0.2mL 上清进行提取。 1.3、如果血液,细胞培养液等含细胞的液体,可以离心用上清,也可以直接取用,但后者提取的病毒 DNA 中会有少量细胞的基因组 DNA 污染(但不影响 PCR)。血浆的抗凝剂必须是 EDTA 或 ACD,不能是肝素。使用 																																

ACD 时由于所加入 ACD 会增加体积，样品会被稀释，得到的病毒滴度会比使用 EDTA 低 15%左右。血浆最好按 0.6mL/管的量分装保存，以避免反复冻融。

- 1.4、 如果样品是实体组织或培养细胞，则需要自备生理盐水中匀浆后离心，用 0.2mL 上清液（含病毒）进行提取，但此种情况下最后得到的病毒 DNA 不可避免的会含有少量基因组 DNA 污染（但不影响 PCR 检测）。
- 1.5、 如果液体样品中的病毒需要富集，可以使用 1.5 mL 上述方法得到的液体在 4℃ 24,000 g 冷冻离心 60 分钟，移弃 1.3 mL、用剩下的 0.2mL 继续操作。
2. 加入 0.6 mL DNA 病毒裂解液到各离心管中，振荡 30 秒混匀后室温放置 10 分钟裂解病毒。注意：DNA 病毒裂解液在 4℃ 放置后可能会产生沉淀，使用前必须放在 65℃ 水浴使沉淀彻底溶解并充分摇匀后再取用。
3. 加入 0.8mL 上柱结合液到离心管中，颠倒混匀后转移一半的混合液（0.8mL）到离心吸附柱中，室温放置 2 分钟。
4. 12,000 rpm 室温离心 1 分钟，弃收集管中的穿透液，把离心吸附柱放回到收集管中。
5. 将剩余的另外一半裂解液（0.8mL）转移到离心吸附柱中，室温放置 2 分钟。
6. 12,000 rpm 室温离心 1 分钟，弃收集管中的穿透液，把离心吸附柱放回到收集管中。
7. 加入 0.7 mL 通用洗柱液到离心吸附柱中，12,000 rpm 室温离心 1 分钟，弃收集管中的穿透液，把离心吸附柱放回到收集管中。
8. 加入 0.3 mL 通用洗柱液到离心吸附柱中，12,000 rpm 室温离心 1 分钟，弃收集管中的穿透液，把离心吸附柱放回到收集管中。此为第二次洗涤，可以跳过。
9. 12,000 rpm 室温离心 1 分钟（干甩），弃含穿透液的离心管。
10. 将干甩后的离心吸附柱套入到一个自备的 RNase-free 的 1.5 mL 离心管中，在离心吸附柱的滤膜的中部加入 30-100 uL DNA 洗脱液 3.0，然后室温放置 2 分钟。
11. 12,000 rpm 室温离心 1 分钟，离心管中的溶液即为病毒 DNA 溶液。
12. DNA 样品可以直接用于 PCR，也可放-20℃ 长期保存。

相关资料

人类疾病相关 DNA 病毒

病毒全称	简称	疾病名称	类型	长度 (kb)
hepatitis B Virus	HBV	hepatitis type B	ss/dsDNA	3.2

	herpes simplex virus	HSV	encephalitis	DNA	3.8
	human papilloma virus	HPV	warts	dsDNA	6.8~8.4
	human T-cell leukemia virus 1	HTLV-1	leukemia	DNA	8.5
	adenovirus	AdV	gastroenteritis	dsDNA	34
	varicella-zoster virus	VZV	chicken pox	dsDNA	125
	human herpes virus-6	HHV-6	oral herpes	dsDNA	170
	Epstein-Barr virus	EBV	Burkitt's lymphoma	dsDNA	175

疑难解答

Q: 提取液体样品/病毒核酸(RNA 或 DNA)为何很难?

A: 原因一是量少。病毒颗粒中的 RNA 或 DNA 是作为遗传物质保存, 每个病毒最多只携带几个拷贝(而一个细胞中有上万种 RNA 分子, 每种 RNA 有很多拷贝), 同时其长度也十分有限(一般不到细胞基因组的万分之一), 样品中病毒数往往又不是很多, 使得样品中病毒核酸的绝对量往往比一个细胞中核酸的绝对量还少, 所以操作中十分容易丢失。另外, 由于得到的核酸绝对量很少, 不能使用电泳和测 OD 检测, 只能通过 PCR 或 RT-PCR 检测, 而 PCR 或 RT-PCR 的条件又需要优化, 所以要确定提取是否成功十分不容易。

关联产品

柱式病毒 RNA_{OUT} (CAT#:71001)