

## DNA 病毒基因组提取试剂盒

货号：AC11021

规格：50T/ 100T

保存：蛋白酶K放置-20℃保存，其他室温(15℃-25℃)干燥保存，复检期 12 个月，2℃-8℃保存时间更长。

试剂盒内容：	50T	100T
蛋白酶 K	1ml	1ml×2
溶液 V	25ml	50ml
漂洗液	15ml	15ml×2
洗脱液	10ml	20ml
吸附柱	50 个	100 个
收集管	50 个	100 个
说明书	1 份	1 份

### 产品简介：

本试剂盒适合于从血清、细胞上清、淋巴液中提取 DNA 病毒基因组，不适合于 RNA 病毒基因组的提取。使用本试剂盒提取的基因组 DNA 可用于各种常规操作，包括酶切、PCR、文库构建、Southern 杂交等实验。

### 操作步骤：

**使用前请先在漂洗液中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶上的标签。所有离心步骤均为使用台式离心机在室温下离心。**

- 1、取病毒上清液 0.5ml，12000rpm 离心 5min，尽量吸尽上清使用，弃去沉淀。
- 2、向病毒上清中加入 20ul 的蛋白酶 K (10mg/ml)，充分混匀，65℃消化 10-20min，期间可颠倒离心管混匀数次。
- 3、向管中加入 500ul 溶液 V，充分混匀。再向管中加入 400ul 无水乙醇，充分混匀，此时可能会出现絮状沉淀，不影响 DNA 的提取，可将溶液和絮状沉淀都加入吸附柱中，静置 2min。(吸附柱的最大容积为 750ul，可分两次加入。一次吸附完离心后再将余下的混合液体加入柱中静置离心。)
- 4、12000rpm 离心 2min，弃废液，将吸附柱放入收集管中。
- 5、向吸附柱中加入 600ul 漂洗液(使用前请先检查是否已加入无水乙醇)，12000rpm 离心 1min，弃废液，将吸附柱放入收集管中。
- 6、向吸附柱中加入 600ul 漂洗液，12000rpm 离心 1min，弃废液，将吸附柱放入收集管中。
- 7、12000rpm 离心 2min，将吸附柱置于室温或 50℃温箱放置数分钟，目的是将吸附柱中残余的漂洗液去除，否则漂洗液中的乙醇会影响后续的实验如酶切、PCR 等。
- 8、将吸附柱放入一个干净的离心管中，向吸附膜中央悬空滴加 50ul-100ul 经 65℃水浴预热的洗脱液，室温放置 5min，12000rpm 离心 1min。
- 9、离心所得洗脱液再加入吸附柱中，室温放置 2min，12000rpm 离心 2min，即可得到高质量的病毒基因组 DNA。

### 注意事项：

- 1、蛋白酶K需放置-20℃保存。

- 2、样品应避免反复冻融，否则会导致提取的DNA片段较小且提取量也下降。
- 3、若溶液V中有沉淀，可在37℃水浴中重新溶解再使用，不影响效果。
- 4、洗脱缓冲液的体积最好不少于50ul，体积过小会影响回收效率。洗脱液的pH值对洗脱效率也有影响，若需要用水做洗脱液应保证其pH值在8.0左右(可用NaOH将水的pH值调至此范围)，pH 值低于7.0会降低洗脱效率。DNA产物应保存在-20℃，以防DNA降解。
- 5、DNA 浓度及纯度检测：得到的基因组 DNA 片段的大小与病毒的保存条件和种类等因素有关。D<sub>260</sub> 值为 1.0 相当于大约 50 ug/ml 双链 DNA、40 ug/ml 单链 DNA。OD<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub> 比值应为 1.7-1.9，如果洗脱时不使用洗脱缓冲液，而使用去离子水，比值会偏低，因为 pH 值和离子存在会影响光吸收值，但并不表示纯度低。
- 6、如果病毒含量过低，最后提取的基因组 DNA 电泳可能无法检测到，但 PCR 等其他实验还会有结果。