

病毒 DNA 提取试剂盒

E.Z.N.A.[®] Viral DNA Kit

| 货号 | D3892-00 | D3892-01 | D3892-02 |
|--------------------------------------|-------------|-------------|-------------|
| 反应次数 | 5 次 | 50 次 | 200 次 |
| HiBind [®] DNA Mini Columns | 5 个 | 50 个 | 200 个 |
| 2 mL Collection Tubes | 15 个 | 150 个 | 600 个 |
| BL Buffer | 5 mL | 20 mL | 60 mL |
| HBC Buffer | 3 mL | 25 mL | 80 mL |
| Linear Acrylamid (5mg/mL) | 25 μ L | 250 μ L | 900 μ L |
| DNA Wash Buffer | 2 mL | 20 mL | 3 x 20 mL |
| Elution Buffer | 5 mL | 40 mL | 160 mL |
| OB Protease Solution | 150 μ L | 600 μ L | 2 x 1.2 mL |
| User Manual | ✓ | ✓ | ✓ |

★ 保存方式及稳定性

1. 按条件保存的试剂盒保质期为 24 个月（见盒外失效日期），所有组分均可常温运输；
2. OB Protease Solution 室温可放置 12 个月，长期保存建议放置 2-8°C；
3. 当贮存温度较低时，BL Buffer 易析出沉淀，请在使用前把整瓶试剂置于 37°C 中，至沉淀完全溶解，充分混匀后再使用。
4. 本试剂盒仅限科学研究使用。

★ 实验前准备

1. 按照下表提示，使用【无水乙醇】对 DNA Wash Buffer 进行稀释，使用【异丙醇】对 HBC Buffer 进行稀释，稀释后室温保存；

| 货号 | DNA Wash Buffer 稀释 | HBC Buffer 稀释 |
|----------|--------------------|---------------|
| | 无水乙醇 加入量 | 异丙醇 加入量 |
| D3892-00 | 8 mL | 1.2 mL |
| D3892-01 | 80 mL | 10 mL |
| D3892-02 | 80 mL (每瓶) | 32 mL |

用户自备仪器及耗材：

- ✓ 离心转速可达 13,000xg 的小型离心机
- ✓ 无核酸酶的 2mL 离心管
- ✓ 无水乙醇、异丙醇
- ✓ 温度可达 65°C 的孵育装置
- ✓ 涡旋仪
- ✓ (可选) RNase A (50mg/mL)、10mM Tris-HCl 或 PBS 缓冲液

★ 离心提取步骤

该步骤适合从新鲜或者冷冻的血清、血浆或无细胞的培养液中提取病毒 DNA。

1. 将样品转移到 2mL 离心管中，如果体积不够 250 μ L，加 10mM Tris-HCl 或 PBS 缓冲液将体积补齐到 250 μ L；
2. 加入 10 μ L OB Protease Solution，4 μ L Linear Acrylamide 和 250 μ L BL Buffer，高速涡旋 15s 混匀；
可选：如果需要获得无 RNA 污染的 DNA，需要加 2 μ L RNase A (50mg/mL)。
3. 于水浴锅中 65°C 孵育 10 min，期间轻柔涡旋混匀一次。
4. 加入 260 μ L 无水乙醇，涡旋 20s 彻底混匀，然后短暂离心收集管盖液滴。
5. 将 HiBind[®] DNA Mini Columns 套入收集管中，转移第 4 步得到的混合液到结合柱中，室温 8,000xg 离心 1min，弃滤液和收集管；
6. 将 HiBind[®] DNA Mini Columns 套入新的收集管中，加入 500 μ L HBC Buffer

(已加异丙醇稀释) 至结合柱中, 8,000xg 离心 1 min, 弃滤液;

注意: HBC Buffer 在使用前必须按照说明书用异丙醇进行稀释。

7. 将 HiBind® DNA Mini Columns 套回收集管中, 加入 700 μ L DNA Wash Buffer (已加无水乙醇稀释) 至结合柱中, 8,000xg 离心 1min, 弃滤液;

注意: DNA Wash Buffer 在使用前必须按照说明书用无水乙醇进行稀释。

8. 重复步骤 7;

9. 将 HiBind® DNA Mini Columns 套回收集管中, 12,000xg 离心空甩 2min。

10. 将 HiBind DNA Mini Columns 套入新的 1.5mL 离心管中, 加入 50-100 μ L 65°C预热的 Elution Buffer 至结合柱中, 室温放置 5min, 然后 8,000xg 离心 1min 洗脱 DNA,

11. 重复步骤 10 进行二次洗脱, 产物放置-20°C 保存。

注意:

- 首次洗脱可获得 60-70%的 DNA, 二次洗脱洗脱效率 > 90%。
- 用新的 Elution Buffer 进行二次洗脱 (可增加产量, 但会导致浓度降低)。
- 将第一次洗脱出的 Elution Buffer 重新加回到柱子中进行二次洗脱 (可增加洗脱浓度但不增加洗脱体积)
- 为了获得高浓度的产物, 可以将 Elution Buffer 体积调到 15-50 μ L。
- Elution Buffer 体积 < 15 μ L 时, 洗脱产量将大幅度降低。

★ 真空抽滤提取步骤

这个方案采用真空抽滤方案来提取 DNA, 使用真空抽滤可大大减少离心时间, 减少重复倒弃滤液和加液的过程。使用前请仔细阅读离心方案, 并按离心方案的步骤 1-4 进行样品的裂解以及调节结合条件。

1. 按照离心方案的 1-4 步, 准备好病毒裂解混合液;
2. 按英文使用说明准备好真空抽滤器, 把 HiBind® DNA Mini Column 连接到抽滤器;
3. 转移裂解混合液到 HiBind® DNA Mini Column, 小心不要超过结合柱的容积 (700 μ L), 用真空抽滤让裂解混合液通过结合柱, 转移剩下的裂解混合液到结合柱, 抽滤, 直到所有的裂解混合液都通过结合柱;

4. 加 500 μ L HBC Buffer (已加异丙醇稀释) 到 HiBind[®] DNA Mini Column, 抽滤让液体流过结合柱;
5. 洗涤结合柱: 加 700 μ L DNA Wash Buffer (已加无水乙醇稀释), 抽滤;
(可选) 重复步骤 5, 进行第二次 DNA Wash Buffer 洗涤;
6. 弃去滤液, 把 HiBind[®] DNA Mini Column 重新装回收集管, 12,000 \times g 离心空甩 2min 以甩干结合柱基质;
7. 把 HiBind[®] DNA Mini Column 装在干净的 1.5mL 离心管上, 加入 50-100 μ L Elution Buffer 到结合柱基质中, 静置 1min, 8,000 \times g 离心 1min 洗脱出 DNA;

注意:

- 首次洗脱可获得 60-70% 的 DNA, 二次洗脱洗脱效率 > 90%。
- 用新的 Elution Buffer 进行二次洗脱 (可增加产量, 但会导致浓度降低)。
- 将第一次洗脱出的 Elution Buffer 重新加回到柱子中进行二次洗脱 (可增加洗脱浓度但不增加洗脱体积)
- 为了获得高浓度的产物, 可以将 Elution Buffer 体积调到 15-50 μ L。
- Elution Buffer 体积 < 15 μ L 时, 洗脱产量将大幅度降低。

★ 产品信息卡



更多详情, 请扫描左方二维码获取原文说明书

中文翻译仅供辅助阅读



中国总代理: 广州飞扬生物工程有限公司

技术支持: 020-32051125

企业 QQ: 800848200 (人工客服在线)

中文网站: omegabiotek.com.cn

如需查询代理商名录, 请关注“飞扬生物”微信号获取

售后保障服务说明

为确保您所使用的试剂为正品来源, 请从使用单位所在地指定代理商处购买 Omega bio-tek 产品。由其他渠道购买或任一标签信息(应包括货号、条形码、完整 Lot 号、失效日期)缺失的试剂盒, 我司恕不提供任何质量保证及售后服务。