

病毒（噬菌体）DNA 提取试剂盒（柱式法）使用说明书

【预期用途】

病毒（噬菌体）DNA 提取试剂盒（柱式法）用于从病毒或噬菌体培养液中分离纯化病毒（噬菌体）基因组 DNA。

【检验原理】

在裂解吸附液和蛋白酶 K 的作用下基因组 DNA 与蛋白质分离，在裂解吸附液高盐低 pH 的环境下，吸附柱内的硅胶膜高效吸附分离的 DNA；洗涤吸附柱，去除蛋白、盐等杂质；在洗脱液低盐高 pH 值的情况下，硅胶膜释放吸附的 DNA，从而达到快速分离纯化基因组 DNA 的目的

【试剂盒组成、贮藏及有效期】

产品编号	组成成分	50T	100T	200T
MDT-VPD01	裂解吸附液 D	10mL×1 瓶	20mL×1 瓶	40mL×1 瓶
	RNA 清除剂	750μL×1 支	1.5mL×1 支	3mL×1 瓶
	蛋白酶 K	1mL×1 支	2mL×1 支	4mL×1 瓶
	RAW1 缓冲液	12mL×1 瓶	24mL×1 瓶	48mL×1 瓶
	吸附柱（含收集管）	50 支	100 支	200 支
	0.5M EDTA (pH 8.0)	150μL×1 支	300μL×1 支	600μL×1 支
	洗脱液 B	5mL×1 瓶	10mL×1 瓶	20mL×1 瓶
	使用说明书	1 份	1 份	1 份

RNA 清除剂：常温（10-30℃）运输，2-8℃保存；

蛋白酶 K：常温（10-30℃）运输，-20℃保存；

其他试剂：常温（10-30℃）运输保存。有效期 1 年。

【注意事项】 使用前务必认真阅读以下注意事项

1. 提前配制 RAW1，RAW1 中乙醇含量低于 60%会影响提取效果。
2. 提前配制 80%乙醇水溶液，乙醇水溶液中乙醇含量低于 80%会影响提取效果。
3. 洗脱液使用量太少会影响提取效果。
4. 本试剂盒在有效期内不同批号试剂可以互换。
5. 虽然本产品无氯仿、苯等 OSHA 规定的危险物品，但操作时最好做好必要的防护措施，戴口罩手套，并且在通风的生物安全柜中进行。
6. 按当地法律法规处理生物样本和废弃物。

【样本要求】

病毒或噬菌体培养液。

【自备器械和试剂】

小型高速离心机（最大离心力 $\geq 12,000 \times g$ ）、振荡仪、金属浴、1.5mL 离心管、 $\geq 1\text{KU/mL}$ 的 DNase I、生理盐水和无水乙醇等。

- **RAW1 配制：**RAW1 缓冲液使用前按照瓶身标签说明加入相应量的无水乙醇，使乙醇含量为 60%，混匀后密封常温保存。
- **80%乙醇水溶液配制：**1 份水加入 4 份无水乙醇，配制成 80%乙醇水溶液，混匀后密封常温保存。

【标准操作步骤】

1a. 不去宿主 DNA 的处理

- ① 在 1.5mL 离心管中，加入经过 0.22 μ m 滤菌器过滤除菌的病毒或噬菌体培养液 200 μ L。
- ② 加入 15 μ L RNA 清除剂，混匀，42 $^{\circ}$ C 孵育 10 分钟。

1b. 去宿主 DNA 的处理

- ① 在 1.5mL 离心管中，加入经过 0.22 μ m 滤菌器过滤除菌的病毒或噬菌体培养液 200 μ L。
- ② 加入 15 μ L RNA 清除剂，混匀，42 $^{\circ}$ C 孵育 10 分钟。
- ③ 加入终浓度为 0.1U/ μ L 的 DNase I（活性 \geq 1KU/mL，自备），混匀，37 $^{\circ}$ C 孵育 60 分钟。
- ④ 加入 3 μ L 的 0.5M EDTA（终浓度 5mM），混匀，80 $^{\circ}$ C 孵育 10 分钟。

2. 取出含已处理样本的离心管，加入 200 μ L 裂解吸附液 D 和 20 μ L 蛋白酶 K，充分混匀，瞬时离心，60 $^{\circ}$ C 静置孵育 10 分钟。

3. 取出离心管，开盖，加入 200 μ L 无水乙醇，吹打混匀。将吸附柱放入收集管中，转移所有液体至吸附柱。

4. 闭盖 12,000 \times g 离心 1 分钟。取出吸附柱，弃去收集管中的废液，将吸附柱重新放入收集管中。

5. 开盖，在吸附柱中加入 600 μ L RAW1，闭盖 12,000 \times g，离心 20 秒。取出吸附柱，弃去收集管中的废液，将吸附柱重新放入收集管中。

6. 开盖，在吸附柱中加入 600 μ L 80%乙醇水溶液，闭盖 12,000 \times g 离心 20 秒。取出吸附柱，弃去收集管中的废液，将吸附柱重新放入收集管中。

7. 开盖，在吸附柱中加入 600 μ L 无水乙醇，闭盖 12,000 \times g 离心 20 秒。取出吸附柱，丢弃收集管。

8. 将吸附柱放入新的 1.5mL 离心管中，闭盖 12,000 \times g 离心 3 分钟，丢弃离心管。

9. 将吸附柱转入新的 1.5mL 离心管中，开盖，加入 50 μ L 洗脱液 B 至吸附柱中心。闭盖室温静置 3 分钟，12,000 \times g 离心 1 分钟，收集洗脱液，备用。

►洗脱液 B 的使用量可以根据需要调整，但不得低于 30 μ L。

【说明书编制日期】 2024 年 01 月 25 日

【基本信息】

企业名称：无锡迈德泰克生物医药有限公司

公司地址：江苏省无锡市惠山经济开发区惠山大道 1699 号生命科技产业园 C5 楼 C50206 室

网 址：www.wuxi-medtech.com

联系电话：173 1562 0564（微信同号）； 138 6175 7779（微信同号）