FastPure® Viral DNA/RNA Mini Kit Pro

RC323

Vazyme

使用说明书

Version 22.1

目 录 Contents

01/产品概述 ····· 02
02/产品组分 ····· 02
03/保存条件 ····· 02
04/适用范围 ····· 02
05/自备材料 ····· 03
06/注意事项 ····· 03
07/实验原理与流程概要 ····· 04
08/实验流程 ····· 04
08-1/Buffer VL Pro工作液配制 ····· 04
08-2/样本处理 ····· 05
08-3/DNA/RNA提取 ····· 05
09/常见问题与解决方案 ····· 06

*所有商标均属于各自商标所有者的财产。某些商标并未在全部行政区注册。

01/产品概述

本试剂盒适用于从全血、血清、血浆、拭子、组织、肺泡灌洗液、细胞培养上清液等多种样本中快速提取高纯度的病毒DNA/RNA。试剂盒采用独特的裂解体系，无需高温孵育，搭配Carrier RNA可显著提高微量核酸的回收率。经过硅胶膜的特异性吸附，可快速高效纯化病毒DNA/RNA。样本兼容性广，获得的核酸得率高，纯度高，可直接用于逆转录、PCR、荧光定量PCR、二代测序以及Northern杂交等下游相关实验。

02/产品组分

	组分	RC323-01 (50 rxns)
BOX 1	■ Carrier RNA (1 μg/μl)	0.6 ml
	□ Proteinase K	1.2 ml
BOX 2	Buffer VL Pro	18 ml
	Buffer VW1	27 ml
	Buffer VW2	9 ml
	RNase-free ddH_2O	6 ml
	FastPure DNA/RNA Columns (each in a 2 ml Collection Tube)	50个
	RNase-free Collection Tubes 1.5 ml	50个

Carrier RNA：提高微量核酸的回收率；
Proteinase K：消化蛋白质；
Buffer VL Pro：裂解样本并提供核酸结合条件；
Buffer VW1：去除残留蛋白和其他杂质；
Buffer VW2：去除残留盐离子；
RNase-free ddH_2O：洗脱吸附膜上的DNA/RNA；
FastPure DNA/RNA Columns：特异性吸附DNA/RNA；
Collection Tubes 2 ml：收集滤液；
RNase-free Collection Tubes 1.5 ml：收集DNA/RNA。

03/保存条件

BOX 1：-30 ~ -15℃保存，≤0℃运输；
BOX 2：15 ~ 25℃保存，室温运输。

04/适用范围

可用于以下样本病毒DNA/RNA提取

样本类别	样本名称
血液	全血、血清、血浆
组织	肝脏、脾脏、肺脏、肾脏、淋巴结、小肠等
其他	粪便、口腔拭子、肺泡灌洗液、细胞培养上清液等

05/自备材料

无水乙醇、RNase-free枪头、1.5 ml RNase-free离心管、离心机、涡旋振荡仪、移液器等。

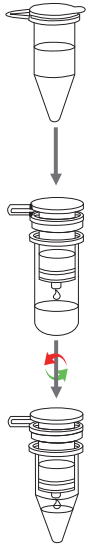
06/注意事项

1. 首次使用前，请参照瓶上标签在Buffer VW1与Buffer VW2中加入指定量的无水乙醇，并进行标注。

组分	加入无水乙醇(ml)
Buffer VW1	18 ml
Buffer VW2	36 ml

2. 试剂盒中含有低温组分Proteinase K，收到后应置于-30 ~ -15℃保存。
3. 试剂盒中含有低温组分Carrier RNA (1 μg/μl)，使用前请充分混匀，按照实际使用情况分装到RNase-free的离心管中，并置于-30 ~ -15℃保存，避免反复冻融。
4. 样本使用前需平衡至室温。
5. 所有操作步骤，均在室温(15 ~ 25℃)下进行。
6. 病毒具有较强的感染能力，操作前必须做好各种防御措施。
7. 样本禁止反复冻融，避免提取的病毒DNA/RNA降解或产量下降。
8. 使用本试剂盒时，请穿戴实验服、一次性乳胶手套、一次性口罩，使用RNase-free耗材等，最大程度避免RNase污染。

07/实验原理与流程概要



裂解样本：依次加入20 μl Proteinase K、300 μl样本、300 μl Buffer VL Pro工作液(工作液配制方式：参考08-1)涡旋混匀，室温静置5 min

调节结合条件：加入200 μl无水乙醇，涡旋混匀15 - 30 sec，短暂离心收集管盖及管壁上的液体

吸附核酸：转移混合液至FastPure DNA/RNA Columns，12,000 rpm (13,800 × g)离心1 min

去除杂质：加入700 μl Buffer VW1(已加入无水乙醇)，12,000 rpm (13,800 × g)离心30 sec
加入700 μl Buffer VW2(已加入无水乙醇)，12,000 rpm (13,800 × g)离心30 sec
12,000 rpm (13,800 × g)空柱离心2 min

洗脱DNA/RNA：加入30 - 50 μl RNase-free ddH_2O，12,000 rpm (13,800 × g)离心1 min

08/实验流程

08-1/Buffer VL Pro工作液配制

Buffer VL Pro工作液为Buffer VL Pro与Carrier RNA (1 μg/μl)的混合液，可根据以下公式计算：

X ml = n × 0.32 ml

Y μl = n × 10 μl

n：提取样本数量，X：所需Buffer VL Pro的体积，Y：所需Carrier RNA的体积

n	X	Y	n	X	Y
1	0.32 ml	10 μl	11	3.52 ml	110 μl
2	0.64 ml	20 μl	12	3.84 ml	120 μl
3	0.96 ml	30 μl	13	4.16 ml	130 μl
4	1.28 ml	40 μl	14	4.48 ml	140 μl
5	1.60 ml	50 μl	15	4.80 ml	150 μl
6	1.92 ml	60 μl	16	5.12 ml	160 μl
7	2.24 ml	70 μl	17	5.44 ml	170 μl
8	2.56 ml	80 μl	18	5.76 ml	180 μl
9	2.88 ml	90 μl	19	6.08 ml	190 μl
10	3.20 ml	100 μl	20	6.40 ml	200 μl

▲将Buffer VL Pro与Carrier RNA (1 μg/μl)混合后，上下轻轻颠倒10次即可，为避免起泡，请勿涡旋振荡。工作液准备完成后在2 ~ 8℃可保存24 h，建议现用现配。

08-2/样本处理

◆血液、口腔拭子、肺泡灌洗液、细胞培养上清液等液体样本可直接取样备用。

◆组织：取100 mg样本放入2 ml离心管中，加入1 ml的PBS或生理盐水，使用匀浆仪匀浆至无明显组织块，短暂离心后取上清备用。

◆粪便拭子等液体样本：短暂离心后取上清备用。

08-3/DNA/RNA提取

以下过程均在生物安全柜中进行

1. 向RNase-free管中依次加入20 μl Proteinase K、300 μl样本(如样本量不足，使用PBS或生理盐水补足至300 μl)、300 μl Buffer VL Pro工作液，涡旋混匀15 - 30 sec，短暂离心收集管盖及管壁上的液体，室温静置5 min。
2. 加入200 μl无水乙醇，涡旋混匀15 - 30 sec，短暂离心收集管盖及管壁上的液体。
   ▲若此时有杂质沉淀，属正常现象，可直接进行后续实验。
3. 将上述混合液全部转移至FastPure DNA/RNA Columns (FastPure DNA/RNA Columns已放入收集管)，12,000 rpm (13,800 × g)离心1 min，弃滤液。
4. 向FastPure DNA/RNA Columns中加入700 μl Buffer VW1 (请先检查是否已加入无水乙醇)，12,000 rpm (13,800 × g)离心30 sec，弃滤液。
5. 向FastPure DNA/RNA Columns中加入700 μl Buffer VW2 (请先检查是否已加入无水乙醇)，12,000 rpm (13,800 × g)离心30 sec，弃滤液。
6. 12,000 rpm (13,800 × g)空柱离心2 min。
7. 小心将FastPure DNA/RNA Columns转移至新的RNase-free Collection Tubes 1.5 ml (试剂盒提供)中，向膜中央悬空加入30 - 50 μl的RNase-free ddH_2O，室温静置1 min，12,000 rpm (13,800 × g)离心1 min。
8. 弃去FastPure DNA/RNA Columns，提取的DNA/RNA可直接用于后续检测，短期保存请置于-30 ~ -15℃，长期保存请置于-85 ~ -65℃。

09/常见问题与解决方案

常见问题	原因	解决方案
FastPure DNA/RNA Columns堵塞	1.样本中杂质过多	样本离心后取上清进行提取
	2.样本消化不充分	加入Buffer VL Pro工作液后，充分振荡混匀并将室温静置时间延长至10 min
	3.Proteinase K活性下降	Proteinase K不能与Buffer VL Pro或Buffer VL Pro工作液预先混合
未提取到DNA/RNA或产量低	1.样本反复冻融	使用新鲜样本，避免反复冻融
	2.Carrier RNA储存不当	Carrier RNA应预先分装后置于-30 ~ -15℃保存，避免反复冻融
	3.洗脱不充分	RNase-free ddH_2O加至膜中央，适当减少洗脱体积，可于65℃预热，延长静置时间或进行二次洗脱
	4.样本未恢复至室温	样本先恢复至室温，再进行核酸提取
	5.离心温度不当	使用室温条件离心
	6.环境拭子等样本中泥沙杂质过多，影响核酸结合	样本离心后取上清进行提取
下游结果不理想	1.盐离子残留	沿吸附柱管壁四周加入Buffer VW2，或加入Buffer VW2后盖盖颠倒混匀2 - 3次，有助于完全冲洗管壁上的盐分
	2.乙醇残留	空柱离心后，打开吸附柱盖子室温静置5 min，最大程度去除乙醇残留
	3.试剂准备有误	使用前按照标签提示，分别向Buffer VW1、 Buffer VW2加入相应的无水乙醇

Vazyme

Vazyme Biotech Co., Ltd.

Web: www.vazyme.com
Tel: +86-400-600-9335
Sales: sales@vazyme.com
Support: support@vazyme.com