上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话：021-61312973　传真：021-55068248
网址：www.shyuanye.com
邮箱：shyysw@sina.com

DNA 病毒基因组提取试剂盒

货号：R32214

规格：50T，100T

保存温度：-20℃保存，有效期 12 个月。

试剂盒内容：	R32214-50T	R32214- 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。D260 值为 1.0 相当于大约 50 ug/ml 双链 DNA、40 ug/ml 单链 DNA。OD260/OD280 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。