

天
净
沙
系
列

CAT#:3674-50
常温运输及保存

TIANDZ

一管式病毒 DNAOUT

One-Tube Viral DNAOUT

使用手册 V1.5

北京天恩泽基因科技有限公司

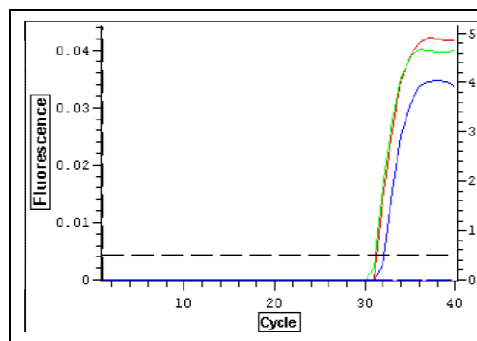
北京市海淀区上地信息路 26 号北京市留学人员海淀创业园中关村创业大厦 506

网址: www.tiandz.com; 电话: 400-6765278; 电邮: order@tiandz.com

产品及特点	<p>本产品是专门用于从血清(血浆)等液体样品中提取病毒(如 HBV)DNA 的产品,其原理是异硫氰酸胍/LiCl 溶液即能裂解病毒,又能沉淀 DNA。本产品灵敏度高,稳定性好,使用简单快捷,尤其适合于整合到临床 PCR 检测试剂盒中。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 回收率高,可以达到 90%以上,高于绝大部分基于离心柱的提取方法。 2. 灵敏度高,通过 PCR 检测到的最终灵敏度可以达到 30-50 拷贝/mL。 3. 一管式操作,不使用离心柱,整个操作过程均在室温下完成。 4. 安全无毒,不需要使用苯酚和氯仿等有机溶液。 5. 处理量大,如果加上病毒离心富集步骤,最多可以处理 1.5 mL 液体病毒样品。 6. 与 PCR 和荧光 PCR 兼容。 7. 本产品只能用于科研,不能用于临床。 			
规格及成分		成 份	编 号	塑料袋包装
		DNA 病毒裂解液	3674a	30 mL
		使用手册	3674sc	1 份
运输及保存	常温运输及保存,有效期一年。			
自备试剂	异丙醇, 70%乙醇			
使用方法	<ol style="list-style-type: none"> 1. 在 1.5 mL 螺旋盖塑料离心管(不要使用压盖式塑料离心管)中加入 0.2 mL 液体样品(血清、血浆、尿液、脑脊液、唾液、眼泪等等)。 <ol style="list-style-type: none"> 1.1、 如果是口腔拭子、咽喉拭子等各种拭子样品,则将拭子放入 0.2mL 自备生理盐水中挤压出液体,然后取 0.2mL 进行 DNA 提取。 1.2、 如果是粪便等半固定样品,则取约 0.3mL 的样品,加入 0.3 自备生理盐水,震荡重悬,离心取 0.2mL 上清进行 DNA 提取。 1.3、 如果血液,细胞培养液等含细胞的液体,可以离心用上清,也可以直接取用,但后者提取的 DNA 中有细胞的基因组 DNA。 1.4、 如果样品是实体组织或培养细胞,则需要在自备生理盐水中匀浆后离心,用 0.2mL 上清液(含病毒)进行 DNA 提取,但此种情况下最后得到的 DNA 不可避免的会含有基因组 DNA。 1.5、 如果液体样品中的病毒需要富集,可以使用 1.5 mL 上述方法得到的液体在 4℃ 24,000 g 冷冻离心 60 分钟,移弃 1.3 mL、用剩下的 0.2mL 继续操作。 2. 在 0.2mL 样品中加入 0.6mL DNA 病毒裂解液,振荡 30 秒混匀后室温放置 10 分钟。 3. 振荡 30 秒混匀后加入 0.7 mL 自备的异丙醇,振荡 30 秒混匀后,15,000 g 			

- 室温离心 15 分钟。
- 移弃上清，注意不要触及管底的 DNA 沉淀，加入 1.0 mL 70%乙醇，振荡数秒后 15,000 g 室温离心 5 分钟。
 - 移弃上清，注意不要触及管底的 DNA 沉淀。再短暂离心数秒，移弃残留液体（残留的乙醇会影响后续反应）。如果此时离心面的管壁上有可见的膜状沉淀，属于正常现象（常见于血清血浆样品）。加入 20uL 核酸样品稀释液，**用移液枪仔细吹打离心管管底和管壁的膜状沉淀，使其溶解。溶解液混浊或有少量不溶物是正常现象。不要离心只取上清使用，因为不溶沉淀物中含有 DNA，必须取混合液使用（哪怕很浑浊）。**
 - 样品可以直接取适量用于 PCR，也可保存于-20℃长期保存。

使用效果



图注：用本产品和市场上某同类产品分别提取 0.2 mL HBV 阳性血浆(含 1000 拷贝/mL HBV)，DNA 溶于 200 ul 水中，取 5 ul 进行荧光 PCR(使用 MJ Research 的 CHROMO4 荧光 PCR 仪)。红和绿线表示本产品，蓝线表示市场上某同类产品。

相关资料

人类疾病相关 DNA 病毒

病毒全称	简称	疾病名称	类型	长度 (kb)
hepatitis B Virus	HBV	hepatitis type B	ss/dsDNA	3.2
herpes simplex virus	HSV	encephalitis	DNA	3.8
human papilloma virus	HPV	warts	dsDNA	6.8~8.4
human T-cell leukemia virus 1	HTLV-1	leukemia	DNA	8.5
adenovirus	AdV	gastroenteritis	dsDNA	34
varicella-zoster virus	VZV	chicken pox	dsDNA	125
human herpes virus-6	HHV-6	oral herpes	dsDNA	170
Epstein-Barr virus	EBV	Burkitt's lymphoma	dsDNA	175

疑难解答

Q: 提取液体样品/病毒核酸(RNA 或 DNA)为何很难?

A: 原因一是量少。病毒颗粒中的 RNA 或 DNA 是作为遗传物质保存，每个病毒最多只携带几个拷贝(而一个细胞中有上万种 RNA 分子，每种 RNA 有很多拷贝)，同时其长度也十分有限(一般不到细胞基因组的万分之一)，样品中病毒数往往又不是很多，使得样品中病毒核酸的绝对量往往比一个细胞中核酸的绝对量还

	<p>少，所以操作中十分容易丢失。另外，由于得到的核酸绝对量很少，不能使用电泳和测 OD 检测，只能通过 PCR 或 RT-PCR 检测，而 PCR 或 RT-PCR 的条件又需要优化，所以要确定提取是否成功十分不容易。</p> <p>Q: 一管式方法提取的 DNA 的纯度能够达到临床 PCR 实验的要求吗?</p> <p>A: 完全可以。Roche 的许多临床用 PCR 诊断试剂就是使用类似的一管式方法。</p>
关联产品	一管式病毒 RNA _{OUT} (CAT#:3073)