

For research use only

Version Number : 2.0-2001

Viral RNA Isolation Kit

For viral RNA from buccal swab, plasma, serum, cell-free body fluids, cell-culture supernatants

试剂盒组成	RE-02011	RE-02014
	50 T	200 T
Linear Acrylamide	120 μ L	480 μ L
Buffer viRL*	25 mL	100 mL
Buffer viRW1	25 mL	100 mL
Buffer viRW2	24 mL	96 mL
RNase-Free ddH ₂ O	10 mL	40 mL
RNA-Only Column	50 套	200 套
说明书	1 份	1 份

*: Buffer viRL 中含有具刺激性的离液盐, 操作时请注意戴上手套和进行相关防护措施。

产品简介

该试剂盒采用本公司研制的离心柱和配方, 可以从口腔拭子、血浆、血清、无细胞体液和细胞培养上清液等样品中高效率分离纯化病毒的 RNA。试剂盒特别加入了 Linear Acrylamide, 可以从体系中轻松捕获微量 RNA, 具有方便快捷、产量高、重复性好的特点。

全体系 RNase-Free, 使得提取的病毒 RNA 无降解; Buffer viRW1、Buffer viRW2 缓冲液洗涤体系, 使得获得的 RNA 纯度极高。

产品信息

型号	离心柱型	纯化组件	Foregene 离心柱、试剂
通量	1-24 个样品	制备时间	~30 min(24 个样品)
离心机	台式离心机	离心柱液体盛装量	800 μ L
纯化柱 RNA 承载量	20 μ g	样本处理量	\leq 200 μ L
洗脱体积	30-50 μ L	产量	\geq 35%回收效率

储存条件

本试剂盒在常温(15–25°C)干燥条件下, 可保存 24 个月; 如需保存更长时间可置于 2–8°C。Linear Acrylamide 溶液, 置于-20°C冷冻保存; Buffer viRL 加入 Linear Acrylamide 后, 在 2-8°C能最多保存 48h, 请现用现配。

注意: 若低温保存, 溶液容易产生沉淀。在使用前务必将试剂盒内的溶液在室温中放置一段时间, 必要时可在 37°C水浴中预热 10 分钟, 以溶解沉淀, 混匀后再使用。

RNA 提取得率与纯度

使用病毒 RNA 提取试剂盒可以从口腔拭子、血浆、血清、无细胞体液和细胞培养上清液等样品中纯化得到的病毒 RNA, 其产量与样本本身、样本初始量、样本新鲜程度、样本保存时间以及操作相关。纯化得到的 RNA, 其 OD260/280=1.8-2.1。

注意事项: (请务必在使用试剂盒前仔细阅读注意事项)

- ◆ 所有实验步骤均在常温(15-25°C)进行(包括离心), **切勿使用冰浴和低温(4°C)离心。**
- ◆ 样品应避免反复冻融, 否则会导致提取的 miRNA 降解且提取量也会下降。
- ◆ 液体样品处理量不要超过 200 μ L, 否则会影响病毒 RNA 产量和纯度。
- ◆ Buffer viRL 加入 Linear Acrylamide 后, 在 2-8°C能最多保存 48h, **请现用现配。**
- ◆ 试剂盒使用前, 请在 Buffer viRW2 中添加无水乙醇, 加入量请参照试剂瓶上标签。
- ◆ RNA 产率和质量与洗脱体积和样本处理量有关, 建议每 500 μ L Buffer viRL 使用样品量: 液体样本 200 μ L、口腔拭子 1 根。
- ◆ 洗脱体积: 洗脱液体积不应少于 30 μ L, 否则会影响 RNA 回收效率。
- ◆ 请检查试剂盒中的 Buffer viRL 是否有晶体析出现象, 若低温存放后有晶体析出, 可将 Buffer 放置于室温或 37°C一段时间, 将晶体溶解后混匀再使用。

操作步骤(全程常温(15-25°C)操作, 切勿冰浴和低温离心)

使用前请先在 Buffer viRW2 中加入无水乙醇, 加入体积请参照瓶上的标签。

1. 用移液器将 **500 μ L** Buffer viRL 和 **2 μ L** Linear Acrylamide 加入一个干净的 2 mL 离心管中, 来回颠倒混匀。

注意: 为避免溶液出现起泡现象, 勿使用涡旋振荡。随着样品个数增加, 等比例同时放大 Buffer viRL 与 Linear Acrylamide 溶液的添加量。如果样本体积大于 200 μ L, 可等比例增加工作液的用量。

2. 按下述方式进行样本处理:

2a. 液体样本: 向步骤 1 的离心管中加入 **200 μ L** 血浆/血清/无细胞体液/细胞培养上清液(样品需平衡

至室温)。涡旋振荡 15 sec 混匀。为了保证裂解充分，样品和 Linear Acrylamide 工作液需要彻底混匀。

2b. 口腔拭子: 将一根取得样本的口腔拭子, 将棉签部分剪下, 放置于步骤 1 的离心管中, 涡旋混匀。

3. 在室温(15-25°C)孵育 10 min。

注意: 如果样本为口腔拭子孵育完成后弃掉口腔拭子。

4. 简短离心以收集附着在管壁及管盖的液体。

5. 加入 **350 μ L** 异丙醇, 盖上管盖并涡旋振荡 15 sec。

6. 简短离心以收集附着在管壁及管盖的液体。

7. 小心将离心管中的 **750 μ L** 混合液转移至 RNA-Only Column 中(RNA-Only Column 放入收集管中), 盖上管盖, **8,000 rpm** (~6,000 xg)离心 1 min, 弃掉收集管中的废液。

注意: 如果混合液中出现絮状沉, 请将沉淀一并转移至 RNA-Only Column 中。如果混合液大于 750 μ L, 请分两次或多次转移通过 RNA-Only Column, 以完全收集混合液中的 RNA, 提高得率。如果吸附柱上的液体未能全部离心至收集管中, 请加大转速, 延长离心时间至液体完全转移到收集管中。

8. 将 RNA-Only Column 放回收集管中, 将剩余混合液全部加入 RNA-Only Column 中, **8,000 rpm** (~6,000 xg)离心 1 min, 弃掉收集管中的废液。

9. 向 RNA-Only Column 中加入 **500 μ L** Buffer viRW1, **8,000 rpm** (~6,000 xg)离心 1 min, 弃掉收集管中的废液。

10. 向 RNA-Only Column 中加入 **700 μ L** Buffer viRW2(使用前请确认已按照说明加入无水乙醇), **8,000 rpm** (~6,000 xg)离心 1min, 弃掉收集管中的废液。

11. 重复步骤 10。

12. 将 RNA-Only Column 放回收集管中, 12,000 rpm (~13,400 xg)空管离心 2 min, 弃掉收集管。

13. 将 RNA-Only Column 转移至新的离心管中, 向 RNA-Only Column 的膜中央滴加 **30-50 μ L** 已于 65°C 预热的 RNase-Free ddH₂O(切勿将洗脱液添加到压圈上, 否则会损失较大体积的洗脱液), 室温放置 2 min。12,000 rpm (~13,400 xg)离心 1 min 收集 RNA 溶液。

注意: RNase-Free ddH₂O 加入体积不应低于 30 μ L, 体积过小会影响洗脱效率。为提高 RNA 产量, 可将离心得到的 RNA 溶液重新加至 RNA-Only Column 中, 重复步骤 13。得到的 RNA 溶液可直接用于下游实验或置于 -80°C 保存。

