

病毒 RNA 抽提试剂盒 (离心柱式, >200 nt)

HX3022

产品简介

病毒 RNA 提取试剂盒 (离心柱式, >200 nt) 是一种基于离心柱法从含病毒的血浆、血清、体液、拭子及细胞及其培养上清、组织等样品中安全、快速、便捷、稳定、高效、高质量地提取长度大于 200 个核苷酸 (nucleotide, nt) 的病毒 RNA 的试剂盒。提取获得的大于 200 个核苷酸的病毒 RNA 样品 (可能同时含有样品中的其它 RNA) 可以用于各种常规用途。可用于 qRT-PCR、反转录、RT-PCR、qPCR、Northern、点杂交、纯化 mRNA、体外翻译、RNase protection assay、cDNA 克隆等下游实验; 也可用于基因表达芯片分析、高通量测序等对 RNA 质量要求较高的情况。样品在裂解液中迅速裂解, 释放出总 RNA, 然后让 RNA 特异性地结合到纯化柱上, 而蛋白质等其它组分通过高速离心被有效去除, 再通过 3 次洗涤充分去除非特异性结合的蛋白、盐等杂质, 最后用洗脱液将高纯度的 RNA 洗脱下来。本试剂盒使用安全, 通过特殊的柱纯化介质进行病毒 RNA 分离纯化, 能有效避免传统的 Trizol 法抽提时使用的酚、氯仿等有毒有害有机试剂; 使用快速、便捷, 采用柱纯化, 无需繁琐的病毒 RNA 沉淀步骤, 抽提操作过程仅 15-20 min。相比于传统的 Trizol 抽提法, 本试剂盒的操作流程显著简化, 缩短了提取时间, 降低了病毒 RNA 被降解的风险。适用于含病毒的血浆、血清、体液、拭子及细胞及其培养上清、组织等样品中病毒 RNA 的抽提, 为提高病毒 RNA 的提取量, 建议自备 carrier RNA。Carrier RNA 一方面可以提高微量病毒 RNA 在纯化过程中与纯化柱的结合效率和洗脱效率; 另一方面可以降低被可能存在的痕量残留 RNase 降解的风险, 在病毒含量较少的情况下效果更为明显。

产品应用

基于离心柱法从含病毒的血浆、血清、体液、拭子及细胞及其培养上清、组织等样品中安全、快速、便捷、稳定、高效、高质量地提取长度大于 200 个核苷酸 (nucleotide, nt) 的病毒 RNA。可用于 qRT-PCR、反转录、RT-PCR、qPCR、Northern、点杂交、纯化 mRNA、体外翻译、RNase protection assay、cDNA 克隆等下游实验; 也可用于基因表达芯片分析、高通量测序等对 RNA 质量要求较高的情况。

储存条件

室温保存, 一年有效。

产品信息

组分编号	组分名称	规格	规格	规格
		12 T	50 T	200 T
HX3022-1	Buffer P1 (裂解液)	8 ml	32 ml	125 ml
HX3022-2	Buffer P2 (结合液)	8 ml	32 ml	125 ml
HX3022-3	Buffer WB1 (洗涤液 I)	8 ml	32 ml	125 ml
HX3022-4	Buffer WB2 (洗涤液 II)	15 ml	63 ml	125 ml×2
HX3022-5	Buffer EB (洗脱液)	1.2 ml	5 ml	15 ml
HX3022-6	RNA 纯化柱及废液收集管	12 套	50 套	200 套
HX3022-7	RNA 洗脱管	12 个	50 个	200 个

注意事项

1. 如果样品中含有细胞或组织，不影响病毒 RNA 的提取，但须注意提取获得的病毒 RNA 中包含细胞或组织的 RNA。为提高病毒 RNA 的提取量，推荐使用 Carrier RNA (病毒 RNA 等抽提用)。
2. 本试剂盒提供的所有试剂和耗材都是 RNase-free，操作时应小心，避免被污染。所有自行准备的试剂和耗材也都应是 RNase-free。如果可能有 RNase 污染，可考虑用 0.01% 的 DEPC 水浸泡过夜，然后高温高压灭菌并烘干。操作时应避免对着样品或所使用的试剂盒耗材呼气或说话，以防 RNase 污染。建议戴一次性口罩操作。
3. 使用冻存的样品提取 RNA 的效果通常比新鲜的样品差一些。因为在样品冻融过程中一些 RNase 会被释放出来并消化样品中的 RNA，建议尽量避免冻融。
4. 本试剂盒所有操作均在室温进行，操作时无需冰浴，所有离心也均在室温进行。
5. 废液收集管在一次抽提中需多次使用，切勿中途丢弃。
6. Buffer P2、Buffer WB1、Buffer WB2 中含有乙醇，使用后须旋紧瓶盖以防挥发，并须按照易燃试剂的相关规范进行存放和使用。
7. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明

1. 样品的准备：
 - a. 液体样品的准备：含病毒的血浆、血清、无细胞体液、拭子、细胞培养上清等样品，按照常规方法取样。

每 100 μ l 液体样品加入 300 μ l Buffer P1。轻轻颠倒混匀 3-5 次。

- b. **选做：**为提高病毒 RNA 的提取量，建议在不含或含很少细胞或者组织的样品中加入 carrier RNA，每个病毒样品需要 2-5 μ g carrier RNA，直接添加至 Buffer P1 中即可。
- c. 细胞样品的准备：收集 50-100 万左右带有病毒的细胞。对于悬浮细胞，1000-2000 $\times$ g 离心 1 min 后弃上清，加入 300 μ l Buffer P1，轻轻吹打 8-10 次至固悬物溶解、溶液澄清；对于贴壁细胞，吸净培养液后加入 300 μ l Buffer P1，轻轻吹打 5-10 次至固悬物溶解、溶液澄清，转移至一洁净离心管内。
- d. 组织样品的准备：取 15-20 mg 带有病毒的动物组织，置于液氮中研磨成粉末，立即加入 600 μ l Buffer P1。也可将组织置于 1.5 ml 离心管中，迅速加入 600 μ l 冰浴预冷的 Buffer P1，用微型电动匀浆器匀浆，或者用普通玻璃匀浆器进行匀浆。研磨或匀浆后，轻轻吹打匀浆液 8-10 次，室温放置 3-5 min。然后约 14,000 $\times$ g 离心 2 min，将上清液移至新的离心管中。对于比较容易裂解且匀浆很充分的组织（如肝组织、脑组织等）可以不用高速离心而直接进入步骤 2。

注：细胞的数量一般不超过 500 万，不超过 100 万细胞宜使用 300 μ l Buffer P1，多于 100 万细胞宜使用 600 μ l Buffer P1。动物组织的用量一般不超过 30 mg，用量过多可能会因裂解不充分导致得率下降。组织样品在裂解和离心后，离心管下部可能会有有一些胶状物质，宜作为上清转移至下一步操作。如果弃除胶状物，会导致得率下降约 30-50%。后续加入 Buffer P2 后胶状物会消失。离心是为了去除未匀浆充分的明显块状物。如果裂解后仍有粘稠物，需增加吹打次数至溶液完全澄清。对于富含 RNase 的样品，Buffer P1 中宜添加 DTT 至终浓度为 40 mM 或添加 β -巯基乙醇至终浓度为 1%。

2. 加入等体积 Buffer P2 至裂解产物中，轻轻颠倒混匀 3-5 次。此时可能会有沉淀物产生，属于正常现象。
3. 将混合物（包括沉淀物）转移至纯化柱内，12,000 $\times$ g 离心 30 sec，倒弃收集管内液体。

注：当 Buffer P1 的体积大于 300 μ l 时，在加入等体积 Buffer P2 后，总体积会超过纯化柱的容量，这时应分成 2 次过柱，即将一半的混合物过柱后，再将剩余的混合物重复步骤 3 一次。对于一些特殊的样品，如出现溶液未完全通过时，可延长离心时间至 1-2 min，或者加大离心力至 16,000 $\times$ g。对于一些能快速启动达到 12,000 $\times$ g 的离心机，离心 30 sec 已经足够，对于一些启动速度缓慢的离心机本步骤及后续步骤中的 30 sec 离心宜调整为 60 sec。

4. 加入 600 μ l Buffer WB1，12,000 $\times$ g 离心 30 sec，倒弃收集管内液体。
5. 加入 600 μ l Buffer WB2，12,000 $\times$ g 离心 30 sec，倒弃收集管内液体。
6. 重复步骤 5 一次。
7. 最高速（约 14,000-16,000 $\times$ g）离心 2 min，去除残留的液体。
8. 将 RNA 纯化柱置于本试剂盒提供的 RNA 洗脱管中，加入 30-50 μ l Buffer EB，室温放置 2-3 min，最高速离心 30 sec，所得溶液即为纯化的病毒 RNA 样品。样品病毒 RNA 提取量可能会较少，用紫外分光光度

计较难测出，建议用 qRT-PCR 法检测。

注：Buffer EB 需要加到纯化柱柱面中央，使其被完全吸收。如需获得更高浓度的样品，可把 Buffer EB 的体积减小至 20 μ l，但洗脱下来的 RNA 量会相对减少。室温较低时，Buffer EB 在 37°C 预热片刻对得率有所帮助。此外，洗脱后的溶液再次加回到原纯化柱再离心洗脱一次，可提高得率约 10-30%；或者在第一次洗脱后使用新的 Buffer EB 再洗脱一次，会获得约为第一次洗脱量 15-40% 的 RNA。