

病毒 RNA/DNA 提取试剂盒（磁珠法）

HX3034

产品简介

病毒 RNA/DNA 提取试剂盒（磁珠法）是一种使用新型核酸纯化介质包被的磁珠，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、高质量地抽提 RNA/DNA 的试剂盒。样品在裂解液中迅速裂解，释放出总 RNA/DNA，然后让 RNA/DNA 特异性地结合到磁珠上，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/DNA 洗脱下来。使用安全，通过特殊的磁珠进行病毒 RNA/DNA 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，采用磁珠纯化，无需繁琐的病毒 RNA/DNA 沉淀步骤，抽提操作过程仅 15-20 min。相比于传统的 Trizol 抽提法或 DNA 抽提方法，操作流程显著简化，缩短了抽提时间，降低了病毒 RNA/DNA 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/DNA 的抽提。对于样品中 RNA/DNA 含量较低的情况下，为提高病毒 RNA/DNA 的提取量，建议自备 Carrier RNA。Carrier RNA 一方面可以提高微量病毒 RNA/DNA 在纯化过程中与磁珠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。Carrier RNA 在病毒含量越低的情况下效果越为明显。抽提获得的病毒 RNA/DNA 样品（可能同时含有样品中的其它 RNA/DNA），后续可以用于病毒感染检测、病毒滴度检测各种常规用途。抽提得到的病毒 RNA/DNA 可用于 qRT-PCR、反转录、RT-PCR、PCR、qPCR、Northern、Southern、点杂交、纯化 mRNA、体外翻译、RNase protection assay、cDNA 或 DNA 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/DNA 质量要求较高的情况。

产品应用

使用新型核酸纯化介质包被的磁珠，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、高质量地抽提 RNA/DNA。

储存条件

室温保存，一年有效。Buffer Beads 长期不使用时，4°C 保存，可以保存更长时间。

产品信息

组分编号	组分名称	规格 10 T	规格 50 T	规格 200 T
HX3034-1	Buffer Beads (磁珠悬浮液)	0.2 ml	1 ml	4 ml
HX3034-2	Buffer P1 (裂解液)	6 ml	30 ml	120 ml
HX3034-3	Buffer P2 (结合液, 第一次使用前加 3.5 ml/17.5 ml/70 ml 无水乙醇)	2.5 ml	12.5 ml	50 ml
HX3034-4	Buffer WB1 (洗涤液 I)	6.5 ml	32 ml	125 ml
HX3034-5	Buffer WB2 (洗涤液 II, 第一次使用前需加入 9 ml/45 ml/90 ml×2 无水乙醇)	3.6 ml	18 ml	36 ml×2
HX3034-6	Buffer EB (洗脱液)	1 ml	5 ml	20 ml

注意事项

1. 需自备磁分离装置, 自备 Carrier RNA。
2. 如果样品中含有细胞或组织, 不影响病毒 RNA/DNA 的抽提, 但须注意抽提获得的病毒 RNA/DNA 中包含细胞或组织的 RNA/DNA。为提高病毒 RNA/DNA 的提取量, 本试剂盒提供的所有试剂和耗材都是 DNase/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 DNase/RNase-free。如果可能有 DNase/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. 使用冻存的样品抽提 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。对于病毒样品, 推荐使用病毒 RNA 稳定保存液进行保存以保证样品 RNA 的完整性。
4. **首次使用前 Buffer P2 需添加 3.5 ml/17.5 ml/70 ml 无水乙醇, Buffer WB2 需添加 9 ml/45 ml/90 ml×2 无水乙醇, 混匀, 并在瓶上做好标记。**
5. 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。Buffer P2、Buffer WB2 中首次使用前添加无水乙醇后, 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。
6. 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。

选做：为提高病毒 RNA/DNA 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。

- b. 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。
- c. 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（病毒样品和裂解液的总体积）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. 加入 20 μ l Buffer Beads（使用前务必混匀），轻柔混匀后，室温放置 3-5 min。将离心管置于磁力架的磁场中，待磁珠完全聚集后，小心吸除液体。

注：磁珠在使用前一定要涡旋或震荡混匀。如有必要，可适当增加磁珠用量，延长结合时间以提高得率。

4. 加入 600 μ l Buffer WB1，轻柔震荡使磁珠分散开，颠倒两次后将离心管置于磁力架的磁场中，待磁珠完全聚集后，尽量吸净液体。
5. 加入 600 μ l Buffer WB2，轻柔震荡使磁珠分散开，颠倒两次后将离心管置于磁力架的磁场中，待磁珠完全聚集后，尽量吸净液体。
6. 重复步骤 5 一次。
7. 将离心管室温放置 3-10 min，或置于 37 $^{\circ}$ C 鼓风烘箱 5 min，确保残留的乙醇等微量液体完全挥发。
8. 加入 50-100 μ l Buffer EB，轻柔震荡使磁珠悬于溶液中，室温孵育 3-5 min，其间甩动离心管 1-2 次。将离心管置于磁场中，待磁珠完全聚集后，小心吸取溶液至新离心管中，后续可以置于 -20 $^{\circ}$ C 保存。所得溶

液即为纯化的 RNA/DNA。

注：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/DNA 量会相对减少。

室温较低时，Buffer EB 在 37°C 预热片刻对提高得率会有所帮助。此外，洗脱后的溶液再次加回到原磁珠再洗脱一次，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/DNA。