



# RNApure Virus Kit

## 病毒RNA提取试剂盒

目录号：CW0586S (50 preps)

保存条件：室温 (15-30°C)

### 产品内容

Component	CW0586S 50 preps
Buffer GL	15 ml
Buffer RW1	40 ml
Buffer RW2 (concentrate)	11 ml
Proteinase K	12.5 mg
Proteinase K Storage Buffer	1.25 ml
RNase-Free Water	10 ml
Spin Columns RS with Collection Tubes	50
RNase-Free Centrifuge Tubes (1.5 ml)	50

## 产品简介

本试剂盒采用可以特异性结合病毒RNA的吸附柱和独特的缓冲液系统，适用于从血清、血浆、尿液、脑脊液等无细胞体液及细胞培养上清液中分离病毒RNA。病毒RNA特异性地结合到硅基质膜上，而污染物则流过该膜。通过两次高效洗涤完全去除蛋白质等杂质，然后用无RNase的水或试剂盒提供的RNase-Free Water洗脱高纯度的病毒RNA。由本试剂盒提取的病毒RNA可直接用于RT-PCR、Real-time RT-PCR和印迹分析等实验。

**自备试剂：**无水乙醇，0.9% NaCl。

## 实验前准备及重要注意事项

1. 向Proteinase K中加入1.25 ml Proteinase K Storage Buffer使其溶解，-20℃保存。配制好的Proteinase K勿长时间室温放置，避免反复冻融，以免影响其活性。
2. 预防RNase污染，应注意以下几方面：
  - 1) 使用无RNase的塑料制品和枪头，避免交叉污染。
  - 2) 玻璃器皿应在使用前于180℃高温下干烤4小时，塑料器皿可在0.5 M NaOH中浸泡10分钟，用水彻底冲洗后高压灭菌。
  - 3) 配制溶液应使用无RNase的水。
  - 4) 操作人员戴一次性口罩和手套，实验过程中要勤换手套。
3. 血清或血浆避免反复冻融导致蛋白变性或产生沉淀，减少病毒滴度进而影响提取病毒核酸的产量。
4. 第一次使用前应按照试剂瓶标签的说明先在Buffer RW2中加入无水乙醇。
5. Buffer GL如果产生沉淀，可在56℃加热使其溶解后室温放置。
6. 所有离心步骤若无特殊说明均在室温下进行，且所有操作步骤动作要迅速。

## 操作步骤

1. 室温下取**200  $\mu$ l血清或血浆**加到1.5 ml离心管（自备）中。

**注意：不足200  $\mu$ l可以加入0.9 % NaCl（客户自备）补足。**

2. 向上步溶液中加入**20  $\mu$ l Proteinase K**，混匀。

3. 加入**200  $\mu$ l Buffer GL**，涡旋震荡15秒。

**注意：不要把Proteinase K加到Buffer GL中。**

4. 56 $^{\circ}$ C 孵育15分钟，短暂离心，将管壁上的溶液收集到管底。

5. 加入**250  $\mu$ l无水乙醇**，涡旋震荡15秒，室温孵育5分钟，短暂离心，将管壁上的溶液收集到管底。

6. 将步骤5得溶液全部加入到已装入收集管的吸附柱（Spin Columns RS）中，若一次不能将全部溶液加入吸附柱中，请分两次转入，12,000 rpm（ $\sim$ 13,400 $\times$ g）离心1分钟，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。

7. 向吸附柱中加入**500  $\mu$ l Buffer RW1**，12,000 rpm离心1分钟，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。

8. 向吸附柱中加入**500  $\mu$ l Buffer RW2（使用前检查是否加入无水乙醇）**，12,000 rpm离心1分钟，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。

9. 向吸附柱中加入**500  $\mu$ l无水乙醇**，12,000 rpm离心1分钟，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。

10. 12,000 rpm 离心3分钟，倒掉收集管中的废液。将吸附柱置于室温数分钟，以彻底晾干。

**注意：1）这一步的目的是将吸附柱中残余乙醇去除，乙醇的残留会影响后续的酶促反应（酶切、PCR等）。**

**2）推荐步骤：将吸附柱放入一个新的1.5 ml离心管（自备）中，打开管盖，56 $^{\circ}$ C 烘箱孵育3分钟，使吸附柱的膜彻底干燥。**

11. 将吸附柱置于一个新的无RNase离心管中，向吸附柱的中间部位悬空加入**20-50  $\mu$ l RNase-Free Water**，室温放置5分钟，12,000 rpm离心1分钟，收集RNA溶液，-70 $^{\circ}$ C保存RNA，防止降解。

**注意：1）RNase-Free Water体积不应小于20  $\mu$ l，体积过小影响回收率。**

**2）如果要提高RNA的产量，可用20-50  $\mu$ l新的RNase-Free Water重复步骤11。**

**3）如果要提高RNA浓度，可将得到的溶液重新加入到吸附柱中，重复步骤11。**

本产品仅供科研使用，请勿用于临床诊断及其它用途