

五、操作步骤

准备:

- 1.在裂解液 VLS 加入 carrier RNA (4 μ L carrier 每 750 μ L VLS).
- 2.在漂洗液 RW 和 70%乙醇中按照说明加入适量无水乙醇。
- 3.检查溶液是否有沉淀。如果有沉淀,请在 37 $^{\circ}$ C 水浴几分钟溶解沉淀。

1. 吸取 750 μ L 裂解液 VLS (已加 carrier RNA) 到一个 1.5mL RNase-free 的离心管。

如果样品体积大于 250 μ L, 请相应增加裂解液 VLS-carrier RNA 的量。(比如: 500 μ L 样品需要 1500 μ L 裂解液 VLS).

通常来讲, 血浆、血清、口腔拭子等病毒含量比较少。所以建议在提取之前, 浓缩样品。

2. 加入 250 μ L 样品 (全血、血清、血浆、口腔拭子或其他生物液体样本) 到此离心管中 (已加裂解液 VLS-carrier RNA)。涡旋 2min 充分裂解样品。

此时的裂解产物可以立即进行下面的 RNA 提取, 或者进行保存。裂解产物可以在-20 $^{\circ}$ C 情况下稳定至 2 个月; 在-80 $^{\circ}$ C 情况稳定半年; 同时, 储存在裂解液中的样品在运输过程中, 也可以在 4 $^{\circ}$ C 稳定一天; -20 $^{\circ}$ C 稳定一周。

3. 室温孵育 10min。
4. 加入 150 μ L 氯仿, 剧烈振荡 15sec, 然后室温孵育 3min。
5. 12,000 rpm, 4 $^{\circ}$ C 离心 10min。可以分为三相: 上层的水相和中间层、下层的有机相。RNA 处在上层水相中。水相体积大约是起始裂解液的 70%。
6. 转移上层水相 (大约 600 μ l) 到一个 RNase-free 的 2ml 离心管中, 加入 2 倍体积 (大约 1.2mL) 体积无水乙醇, 轻轻混匀, 室温静置 10min。然后 12,000rpm, 4 $^{\circ}$ C 离心 10min。
7. 弃上清, 加入 700 μ l 漂洗液 RW, 涡旋混匀, 12,000 rpm, 4 $^{\circ}$ C 离心 5min, 然后弃上清。
8. 加入 1mL 70% 乙醇, 涡旋 10sec, 12,000rpm, 4 $^{\circ}$ C 离心 5min, 然后弃上清。
9. 室温干燥 RNA 沉淀 5-10min。溶解于 10-30 μ l RNase-free 水中。不要完全干燥 RNA, 否则难溶。

一般实验室使用, 仅用于 *体外*

病毒RNA提取试剂盒 (溶液型)

适用于从全血、血清、血浆、
口腔拭子等生物液体中提取病毒 RNA

目录号: RP 9001 50 次
RP 9002 100 次

使用手册

2009年4月, 第1版



北京百泰克生物技术有限公司

BioTeke Corporation

一、试剂盒组成、储存、稳定性

组分	保存	50 次 (RP9001)	100 次 (RP9002)
裂解液: VLS	4℃	40 mL	80 mL
Carrier RNA	-20℃	200 μL	400 μL
漂洗液:RW*	4℃	15 mL	30 mL
70% 乙醇*	RT	9 mL	18 mL
RNase-free H ₂ O	RT	10 mL	20 mL
RNase-free 离心管 (1.5mL)	RT	50	100
RNase-free 离心管 (2mL)	RT	50	100

本试剂盒在室温储存 12 个月不影响使用效果。

注意事项

- 第一次使用前请先在漂洗液 RW 中加入指定量乙醇(6ml RW 瓶加 24 毫升,15ml RW 瓶加 60ml), 充分混匀, 加入后请及时在方框打钩标记已加入乙醇, 以免多次加入!
- 裂解液 VLS 低温时可能出现析出和沉淀, 可以在 37℃水浴几分钟帮助重新溶解, 恢复澄清透明后冷却到室温即可使用。
- 避免试剂长时间暴露于空气中发生挥发、氧化、PH 值变化, 各溶液使用后应及时盖紧盖子。

二、产品描述

病毒 RNA 提取试剂盒可以快速从全血、血清、血浆、口腔拭子等生物液体中提取病毒 RNA。在此试剂盒中, 使用了核酸助沉剂--carrier RNA。核酸助沉剂不仅有利于微量 RNA 的沉淀, 同时也可以减少 RNA 的降解。本试剂盒操作简捷方便。30-40min 就可以完成一个样品的提取, 得到纯净的 RNA。RNA 可以使用 RT-PCR, real-time qPCR, Northern blot, Dot blot, poly(A)+ selection,

体外翻译, 和分子克隆等实验。此外, 裂解液 VLS 也是病毒 RNA 样品的一个很好的保存液。储存在裂解液中的病毒 RNA (在病毒样品中加入 3 倍体积裂解液后剧烈涡旋裂解样品) 可以在-20℃ 情况下稳定至 2 个月; 在-80℃情况稳定半年; 同时, 储存在裂解液中的样品在运输过程中, 也可以在 4℃稳定一天; -20℃稳定一周。

三、自备试剂和仪器

- 氯仿
- 无水乙醇
- 涡旋仪
- 离心机(带适合 1.5 和 2mL 离心管的转头)

四、注意事项 (实验前必须首先阅读这部分!)

- 所有的离心步骤均在室温完成, 使用转速可以达到13, 000 rpm的传统台式离心机, 如Eppendorf 5415C 或者类似离心机。
- 开始实验前将需要的水浴先预热到 70℃备用。
- 为了最佳效果, 最好使用新鲜液体标本并且避免反复冻融, 否则会使提取片段较小并严重降低产量。