

Technical literature is available at: www.mesgenbio.com. E-mail MesGen Technical Services if you have questions on use of this system: tech@mesgenbio.com



产品简介

本试剂盒采用可以结合病毒RNA的吸附柱和高效的缓冲液系统，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，用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。

产品包装

组分	50 tests	100 tests	250 tests
Solution TR	15 mL	30 mL	75 mL
RNA Wash Buffer	12 mL	24 mL	60 mL
RNase-Free Water	10 mL	20 mL	50 mL
Proteinase K	1×1500 µl	2×1500 µl	5×1500 µl
RNase-Free吸附柱	50个	100个	250个
RNase-Free离心管	50个	100个	250个

注意事项

1. 使用无RNase的塑料制品和枪头，避免交叉污染。
2. 玻璃器皿使用前于180°C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。
5. 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。
6. 第一次使用前应按照试剂瓶标签的说明先在RNA Wash Buffer中加入无水乙醇。
7. 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。
8. 请自备氯仿、无水乙醇等化学试剂。

操作步骤 (以血清/血浆为例)

1. 室温下取300 µl血清或血浆加到1.5 ml离心管 (RNase Free) 中。
注意：不足300 µl可以加入生理盐水 (RNase Free) 补足。
2. 向上步溶液中加入30 µl Proteinase K，混匀。室温静置5分钟。
3. 加入300 µl Solution TR，涡旋震荡15秒。
注意：不要直接把Proteinase K加到Solution TR中。
4. 56°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120 µl氯仿，颠倒混匀，12,000 rpm (~13,400xg) 离心15分钟，取上层水相 (含病毒RNA) 转移到新的1.5

ml离心管 (RNase Free) 中。

6. 加入700 μ 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。
7. 将步骤6得溶液全部加入到已装入收集管的吸附柱中, 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 (~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。
8. 向吸附柱中加入500 μ l RNA Wash Buffer (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 μ l RNA Wash Buffer (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。
10. 向吸附柱中加入500 μ 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。
11. 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°C烘箱孵育3分钟, 使吸附柱的膜彻底干燥。
12. 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 μ 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°C保存RNA, 防止降解。

注意:

- 1) RNase-Free Water体积不应小于20 μ l, 体积过小影响回收率。
- 2) 如果要提高RNA的产量, 可用20-50 μ l新的RNase-Free Water重复步骤12。
- 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12。

保存条件

Proteinase K 置于-20°C; 其余组成室温保存, Solution TR 中若有沉淀, 可在 56°C水浴中重新溶解, 不影响正常使用。

仅供科学研究, 不得用于临床治疗