

RaPure Viral RNA/DNA Kit

病毒总核酸抽提试剂盒

产品简介

本产品适合于从血清、血浆、牛奶、体液、培养液、组织匀浆液、拭子等样品中提取病毒 RNA 和 DNA。试剂盒基于硅胶柱纯化技术，提取过程中无需使用有毒的酚氯仿抽提，也无需进行耗时的醇类沉淀。该产品已经成功地提取了对虾乙肝 A/C、丙肝 RNA、SARS 以及 HIV 等。获得的 RNA 可直接用于 RT-PCR、Northern 杂交、以及各种病毒检测等。获得的 DNA 可直接用于 PCR、荧光定量 PCR、病毒检测等。

产品组份

产品编号	R4177-01	R4177-02	R4177-03
纯化次数	10 次	50 次	250 次
HiPure Viral Micro Columns	10	50	250
2ml Collection Tubes	10	50	250
Buffer VLP1	3 ml	15 ml	60 ml
Buffer VLP2	1.8 ml	5 ml	25 ml
Buffer VHB*	4 ml	13 ml	66 ml
Buffer RW2*	3 ml	20 ml	50 ml
Nuclease Free Water	1.8 ml	10 ml	30 ml

保存条件

本产品可在室温(15-25℃)保存 18 个月，长期保存时需置于 2-8℃。

准备事项

- 无水乙醇(96-100%)
- 离心管
- 无 RNA 酶的枪头
- Buffer VHB 使用前必须用无水乙醇稀释，并于室温保存。
- Buffer RW2 使用前必须用无水乙醇稀释，并于室温保存。
- 准备异丙醇（1%冰乙酸）：在 99 ml 异丙醇中加 1 ml 冰乙酸，混合均匀，室温密闭贮存。

实验步骤

1. 转移 200 μ l Buffer VLP1 至 1.5ml 离心管中。
2. 加入 200 μ l 样品，如血清、血浆、尿液、培养液上清、或其它无细胞体液到离心管中，涡旋混匀 10 秒。室温放置 5 分钟。
咽/口腔拭子，或固体组织样品先用 Buffer PBS 浸泡或匀浆后，离心取上清进行操作。若样品不足 200 μ l，用 Buffer PBS 或 Nuclease Free Water 补足。
3. 加入 75 μ l Buffer VLP2 至样品中，立即涡旋混匀 10 秒。12,000 \times g 离心 5 分钟。
4. 转移 400~450 μ l 上清液至新的离心管中，加入 300 μ l 异丙醇(1%冰乙酸)，颠倒混匀 6-8 次。
5. 把 HiPure Viral Micro Column 装在 2ml 收集管中。转移全部混合液至柱子中。12,000 \times g 离心 30-60 秒。
6. 倒弃滤液把柱子装回收集管中。加入 500 μ l Buffer VHB(已用无水乙醇稀释)至柱子中。12,000 \times g 离心 30-60 秒。
使用前 Buffer VHB 必须按瓶子标签所示用无水乙醇稀释。
7. 倒弃滤液把柱子装回收集管中。加入 650 μ l Buffer RW2(已用无水乙醇稀释)至柱子中。12,000 \times g 离心 30-60 秒。
使用前 Buffer RW2 必须按瓶子标签所示用无水乙醇稀释。
8. 倒弃滤液把柱子套回收集管。12,000 \times g 离心空柱 2 分钟甩干柱子。
9. 将柱子转移至新的 1.5ml 离心管。加入 30~100 μ l Nuclease Free Water 至柱子的膜中央。12,000 \times g 离心 1 分钟。
10. 弃去柱子，把 DNA/RNA 保存于-80 $^{\circ}$ C。

常见问题

1. 柱子堵塞

- **样品用量太多：**处理动物抗凝血液时，样品量控制在 100~150 μ l。尽量使用无细胞的样品，如血浆、血清、组织匀浆液的上清等。
- **样品含固体颗粒：**在第 5 步加入乙醇前，10,000 \times g 离心 3 分钟去除未消化的杂质，转移上清液至新的离心管后再加入乙醇。
- **样品裂解不充分：**样品与 Buffer AL 混匀不充分。重新提取，加入 Buffer AL 后先颠倒混匀 3~5 次，然后以最高速度涡旋让样品与 Buffer AL 充分混匀。

2. 下游应用结果不理想

- **样品被反复解冻：**避免反复冻溶样品。推荐使用新鲜样品或只解冻过一次的样品。
- **Nuclease Free Water 被污染：**更换新的 Nuclease Free Water 或 DEPC 处理水。
- **试剂准备有误：**按瓶子标签所示，加入合适体积的无水乙醇至 Buffer VHB 和 Buffer RW2 中。
- **乙醇残留：**柱子在洗脱前，需要空甩去除乙醇。对于敏感的应用，柱子在洗脱后，打开柱子的盖子，放置 10~15 分钟让乙醇彻底挥发。
- **洗脱效率：**处理富含 DNA 的样品时，把 Nuclease Free Water 预热至 55 $^{\circ}$ C 后再进行洗脱，有利于提高 DNA 得率。