

版本号: FRI1906

FinePure Virus RNA Kit

FinePure 病毒 RNA 提取试剂盒

(离心柱型)

目录号: FR501

产品内容:

Contents	FR501 (50 preps)
Buffer RLT	30 ml
Buffer DW1	13 ml
Buffer RW2	12 ml
RNase Free ddH ₂ O	15 ml
Carrier RNA	310 µg
RNase Free ddH ₂ O (管装)	1 ml
FinePure Mini Spin Columns	50 个
2 ml Collection Tubes	50 个
1.5 ml RNase Free Microcentrifuge Tubes	50 个

储存条件:

该试剂盒置于室温 (15-25°C) 干燥条件下, 可保存 12 个月。Carrier RNA 配置成储液后置于 -20°C。

本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。

产品简介:

本试剂盒采用可以特异性结合病毒 RNA 的离心吸附柱和独特的缓冲液系统, 适用于从 140-560 μl 血浆/血清/淋巴液中提取病毒的 RNA, 该试剂盒配备了 Carrier RNA 用于充分收集微量 RNA。离心吸附柱中采用的硅基质材料为本公司特有新型材料, 高效、专一吸附 RNA, 可最大限度去除杂质蛋白等。提取的病毒 RNA 纯度高, 质量稳定可靠, 可适用于各种常规操作, 包括酶切、PCR、文库构建、Southern 杂交等实验。

注意事项:

- 1 所有的离心步骤均在室温下进行 (15–25 $^{\circ}\text{C}$)。
- 2 将样品平衡至室温。
- 3 试剂盒中提供的 1.5 ml RNase Free 离心管供第 12 步洗脱步骤使用, 其余离心管需自备。

Carrier RNA 溶液的配制:

- Carrier RNA 为冻干粉状, 使用时加入 310 μl RNase Free ddH₂O 充分溶解, 配制成 1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ 溶液, 并按实验情况分装到 RNase Free 的离心管中, 置于-20 $^{\circ}\text{C}$ 储存。使用时按照提取的次数取出相应的溶液, 该溶液应避免反复冻融, 冻融次数不能超过 3 次。
- 注意 Carrier RNA 冻干粉不能直接溶解于 Buffer RLT 中, 必须先溶解在 RNase Free ddH₂O 中, 再溶解至 Buffer RLT 中。
- **Carrier RNA 工作液: 根据样品的数量计算所需 Buffer RLT 和 Carrier RNA 溶液的体积 (见表 1 或使用以下公式计算)**, 将 Buffer RLT 与 Carrier RNA 溶液颠倒混匀, 即得到 Carrier RNA 工作液; 为避免溶液出现起泡现象, 请勿使用涡旋振荡。 **如果需要提取大量的样品, 可根据以下公式计算:**

$$n \times 0.56 \text{ ml} = y \text{ ml}$$

$$y \text{ ml} \times 10 \mu\text{l/ml} = z \mu\text{l}$$

n=同时提取的样品个数, y=需要加入 Buffer RLT 的体积, z=需要加入 Carrier RNA 溶液的体积。

- 注意请将 Buffer RLT 与 Carrier RNA 溶液颠倒混匀, 即得到 Carrier RNA 工作液; 为避免溶液出现起泡现象, 请勿使用涡旋振荡。

表 1 Carrier RNA 工作液的配制

样品 个数	RLT(ml)	Carrier RNA 水溶液(μl)	样品 个数	RLT(ml)	Carrier RNA 水溶液(μl)
1	0.56	5.6	13	7.28	72.8
2	1.12	11.2	14	7.84	78.4
3	1.68	16.8	15	8.40	84.0
4	2.24	22.4	16	8.96	89.6
5	2.80	28.0	17	9.52	95.2
6	3.36	33.6	18	10.08	100.8
7	3.92	39.2	19	10.64	106.4
8	4.48	44.8	20	11.20	112.0
9	5.04	50.4	21	11.76	117.6
10	5.60	56.0	22	12.32	123.2
11	6.16	61.6	23	12.88	128.8
12	6.72	67.2	24	13.44	134.4

操作步骤：

1. 用移液器将 560 μl Carrier RNA 工作液（Buffer RLT 与 Carrier RNA 溶液的混合液，配制方法如表 1 或按照公式计算）加入一个干净的 1.5ml 离心管中。
注意：如果样本体积大于 140 μl，可等比例增加工作溶液的用量。
2. 向离心管中加入 140 μl 血浆/血清/淋巴液（样品需平衡至室温）。涡旋振荡 15 sec 混匀。为了保证裂解充分，样品和 Carrier RNA 工作液需要彻底混匀。
3. 室温孵育 10 min。简短离心以收集附在管壁及管盖的液体。
4. 加入 560 μl 无水乙醇，盖上管盖并涡旋振荡 15 sec。简短离心以收集附在管壁及管盖的液体。
注意：如果周围环境高于 25°C，乙醇需要再在冰上预冷后再加入。
5. 将离心管中的 700 μl 液体转移至吸附柱 FinePure Mini Spin Columns（吸附柱放在收集管中），盖上管盖，12,000 rpm 离心 1 min，弃废液，将吸附柱放回收集管中。
6. 将剩余的离心管中液体按步骤 5 再次过柱。
7. 小心打开吸附柱盖子，加入 500 μl Buffer DW1（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），盖上管盖，12,000 rpm 离心 1 min，弃废液，将吸附柱放回收集管。
8. 小心打开吸附柱盖子，加入 500 μl Buffer RW2（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），盖上管盖，12,000rpm 离心 1 min，弃废液，将吸附柱放回收集管。

-
9. 重复操作步骤 8 一次。
 10. 12,000rpm 离心 3 min, 使吸附膜完全变干, 弃废液。
 11. 可选步骤: 将吸附柱放回 2 ml 收集管中, 打开吸附柱盖子, 室温放置 3 min, 使吸附膜完全变干。
 12. 将吸附柱放入一个 1.5 ml RNase Free 离心管中, 小心打开吸附柱的盖子, 向膜中央加入 60 μ l RNase Free ddH₂O, 盖上盖子, 室温放置 5 min。12,000rpm 离心 1 min。
注意: 确保洗脱液 (RNase Free ddH₂O) 在室温平衡后再使用。如果加入洗脱液的体积很小 (小于 50 μ l), 为了将膜上的 RNA 充分洗脱下来, 应注意将洗脱液加到膜的中央位置。洗脱体积可以根据后续的实验要求灵活处理, 洗脱液 (RNase Free ddH₂O) 加到吸附柱后, 离心前在室温放置 5 min, 有助于提高 RNA 的产量。