

RNA 病毒基因组提取试剂盒

货号: AC13987

规格: 50T/100T

保存: 室温 (15°C-25°C) 干燥条件下可保存 12 个月, 更长时间的保存可置于 2°C-8°C。蛋白酶K保存在-20°C。

产品内容:

试剂盒组成	AC13987-50	AC13987-100
蛋白酶 K	1ml	2ml
洗柱液	50ml	50ml×2
结合液	25ml	50ml
漂洗液	15ml	15ml×2
RNase free ddH ₂ O	15ml	15ml×2
RNase free 吸附柱	50 个	100 个
RNase free 收集管(2ml)	50 个	100 个

产品简介:

本试剂盒适合于从血清、细胞上清、淋巴液中提取 RNA 病毒基因组, 不适合于细胞等组织内 RNA 病毒基因组的提取。使用本试剂盒提取的基因组 RNA 可用于 RT-PCR 实验。

操作步骤:

使用前请先在漂洗液中加入一瓶新开启的无水乙醇, 在15mL漂洗液中加入60mL无水乙醇, 盖好摇匀。所有离心步骤均在 2-8°C 条件下进行。

- 1、取病毒上清液 0.5ml, 12000rpm 离心 5min, 尽量吸尽上清使用, 弃去沉淀 (如无沉淀可省去此步)。
- 2、向病毒上清中加入 20ul 10mg/ml 的蛋白酶 K, 充分混匀, 65°C 消化 10min, 期间可颠倒离心管混匀数次。
- 3、吸附柱前处理: 从包装中取出吸附柱, 放入收集管中, 加入 700ul 洗柱液, 室温放置 2 分钟, 2-8°C 12000 rpm 离心 2min, 弃废液, 将吸附柱放入收集管中待用。
- 4、向病毒上清中加入 500ul 结合液, 充分混匀。再向管中加入 400ul 无水乙醇, 充分混匀, 此时可能会出现絮状沉淀, 不影响 RNA 的提取, 可将溶液和絮状沉淀都加入吸附柱中, 静置 2min。(吸附柱的最大容积为 750ul, 可分两次加入。一次吸附完离心后再将余下的混合液体加入柱中静置离心。)
- 5、12000rpm 离心 2min, 弃废液, 将吸附柱放入收集管中。
- 6、向吸附柱中加入 700ul 漂洗液(使用前请先检查是否已加入无水乙醇), 12000rpm 离心 1min, 弃废液, 将吸附柱放入收集管中。
- 7、向吸附柱中加入 500ul 漂洗液, 12000rpm 离心 1min, 弃废液, 将吸附柱放入收集管中。
- 8、12000rpm 离心 2min, 将吸附柱置于室温或 50°C 温箱放置数分钟, 目的是将吸附柱中残余的漂洗液去除, 否则漂洗液中的乙醇会影响后续的实验如酶切、PCR 等。

9、将吸附柱放入一个干净的离心管中，向吸附膜中央悬空滴加 50ul-100ul 经 65℃水浴预热的 RNase free ddH₂O，室温放置 5min，12000rpm 离心 2min。即可得到高质量的病毒基因组 RNA。

注意事项：

- 1、经常更换新手套。因为皮肤经常带有细菌，可能导致 RNase 污染。使用无 RNase 的塑料制品和枪头避免交叉污染。
- 2、样品应避免反复冻融，否则会导致提取的 RNA 提取量也下降。
- 3、若结合液中有沉淀，可在 37℃水浴中重新溶解。
- 4、如果样品消化不彻底，后面的离心步骤中可能会出现堵柱子的情况，可适当延长离心时间。
- 5、洗脱缓冲液的体积最好不少于 50ul，体积过小会影响回收效率。
- 6、RNA 产物应保存在-70℃，以防 RNA 降解。
- 7、RNA 检测：得到的基因组 RNA 片段的大小与病毒的保存条件和种类等因素有关。由于病毒不含有核糖体 RNA，所以常规电泳无法检测，只有后期实验才可检测到。D260 值为 1 相当于大约 40 μg/ml 单链 RNA。