

M5 RNAPure Virus Kit 病毒 RNA 提取试剂盒使用说明书

产品名称	单位	货号
M5 RNAPure Virus Kit	50T	MF152-01

【储存条件】

常温保存。

【产品简介】

本试剂盒采用可以特异性结合病毒 RNA 的吸附柱和独特的缓冲液系统，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，而污染物则流过该膜。通过两次高效洗涤完全去除蛋白质等杂质，然后用无 RNase 的水或试剂盒提供的 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。

【自备试剂】

无水乙醇，0.9% NaCl。

【产品组份】

	50 T
Buffer RLV	15 ml
Buffer RW1	40 ml
Buffer RW2 (concentrate)	11 ml
Proteinase K	12.5 mg
Proteinase K Storage Buffer	1.25 ml
RNase-Free Water	10 ml
Spin Columns RS with Collection Tubes	50
RNase-Free Centrifuge Tubes (1.5ml)	50

【实验前准备及重要注意事项】

1. 向 Proteinase K 中加入 1.25 ml Proteinase K Storage Buffer 使其溶解，-20°C 保存。配制好的 Proteinase K 勿长时间室温放置，避免反复冻融，以免影响其活性。
2. 预防 RNase 污染，应注意以下几方面：
 - 1) 使用无 RNase 的塑料制品和枪头，避免交叉污染。
 - 2) 玻璃器皿应在使用前于 180°C 高温下干烤 4 小时，塑料制品可在 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。
3. 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。
4. 第一次使用前应按照试剂瓶标签的说明先在 Buffer RW2 中加入无水乙醇。
5. Buffer RLV 如果产生沉淀，可在 56°C 加热使其溶解后室温放置。
6. 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。

【操作步骤】

1. 室温下取 200 μ l 血清或血浆加到 1.5 ml 离心管（自备）中。

注意：不足 200 μ l 可以加入 0.9 % NaCl（客户自备）补足。

2. 向上步溶液中加入 20 μ l Proteinase K，混匀。

3. 加入 200 μ l Buffer RLV，涡旋震荡 15 秒。

注意：不要直接把 Proteinase K 加到 Buffer RLV 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 250 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。

6. 将步骤 5 得溶液全部加入到已装入收集管的吸附柱（Spin Columns RS）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（ \sim 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。

7. 向吸附柱中加入 500 μ l Buffer RW1，12,000 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。

8. 向吸附柱中加入 500 μ l Buffer RW2（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 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. 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 1.5 ml 离心管（自备）中，打开管盖，56°C 烘箱孵育 3 分钟，使吸附柱膜彻底干燥。

11. 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 11。

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 11。

【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。