

RaPure Viral RNA/DNA Kit

病毒总核酸快速抽提试剂盒

本产品适合于从抗凝血、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	R4410-01	R4410-02	R4410-03
纯化次数	10 次	50 次	250 次
HiPure RNA Columns A	10	50	250
2ml Centrifuge Tubes	10	50	250
1.5ml Centrifuge Tubes	10	50	250
Proteinase K	6 mg	24 mg	120 mg
Protease Dissolve Buffer	1.8 ml	1.8 ml	15 ml
Buffer GRP	10 ml	30 ml	150 ml
Buffer GW1 *	6.6 ml	13 ml	66 ml
Buffer RW2 *	5 ml	20 ml	50 ml
Nuclease Free Water	1.8 ml	10 ml	30 ml

保存条件

本产品室温(15~25℃)可保存 18 个月。低温下, Buffer GRP 可能会有沉淀形成, 需 55℃ 水浴让沉淀完全溶解。Proteinase K 干粉室温运输和保存, 长期保存建议保存于-20~8℃, 溶解后的 Proteinase K 需保存于-20~8℃。

准备事项

- 无水乙醇(96-100%)
- Buffer GW1 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。
- 溶解 Proteinase K (20mg/ml): 加入适量的 Protease Dissolve Buffer 溶解 Proteinase K 至终浓度为 20mg/ml，轻轻颠倒让蛋白酶 K 充分溶解。Proteinase K 干粉可在室温下保存一年，但溶解的 Proteinase K 须分装保存于-20~8℃。
- 小型离心机(12,000 x g)
- 点动涡旋仪
- (组织样品)匀浆器
- (可选)Buffer PBS

实验步骤

1. 转移 20 μ l Proteinase K 至 1.5ml 离心管中。
2. 转移 100~250 μ l 液体样品（如血清、血浆、细胞培养液、组织匀浆液上清等）至装有 Proteinase K 的离心管中，振荡混匀 5 秒。
 - **咽拭子、口腔拭子或肛拭子：**取拭子样品放置于 1.5ml 离心管，加入适量的 0.3~0.6ml Buffer PBS，充分涡旋混匀后，取 250 μ l 重悬液进行操作。
 - **动植物组织等固体样品：**取 50~100mg 样品，加入 1ml Buffer PBS，用合适的匀浆器匀浆打散样品后，13,000 \times g 离心 3 分钟，取 100~250 μ l 上清进行操作。
 - **哺乳动物抗凝血液：**动物血液含有大量的蛋白质和核酸，建议样品用量为 100~200 μ l，过量的样品可能会引起柱子的堵塞。禽类血液核酸含量非常高，只能使用血清或血浆样品。
3. 加入 500 μ l Buffer GRP 至样品中，涡旋混匀 10 秒，室温静置 10 分钟。
4. 把 HiPure RNA Column A 装在 2ml 收集管中。转移混合液至柱子中。12,000 \times g 离心 30~60 秒。
5. 倒弃滤液把柱子装回收集管中。加入 500 μ l Buffer GW1(用乙醇稀释)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 650 μ l Buffer RW2(用乙醇稀释)至柱子中。12,000 \times g 离心 30~60 秒。
7. 倒弃滤液把柱子套回收集管。12,000 \times g 离心 2 分钟以甩干柱子。
8. 将柱子转移至新的 1.5ml 离心管。加入 30~50 μ l Nuclease Free Water 至柱子的膜中央。静置 2 分钟。12,000 \times g 离心 1 分钟。
9. 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 100~200 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。
- **延长消化时间：**加入 Buffer GRP 后，延长室温静置至 15~30 分钟。
- **Proteinase K 活性下降：**重新制备 Proteinase K。使用后 Proteinase K 必须保存于 -20 $^{\circ}$ C。Proteinase K 与 Buffer GRP 不能预先混合。

2. 下游应用结果不理想

- **样品被反复解冻：**避免反复冻融样品。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 GW1 和 Buffer RW2 中。
- **Proteinase K 活性下降：**重新制备 Proteinase K。使用后 Proteinase K 必须立即保存于 -20 $^{\circ}$ C。分装保存 Proteinase K，避免反复冻融。
- **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。
- **盐分残留：**重复用 650 μ l Buffer RW2 洗涤柱子一次。
- **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。