

RNAeasy™病毒RNA抽提试剂盒(离心柱式)

产品编号	产品名称	包装
R0035S	RNAeasy™病毒RNA抽提试剂盒(离心柱式)	12次
R0035M	RNAeasy™病毒RNA抽提试剂盒(离心柱式)	50次
R0035L	RNAeasy™病毒RNA抽提试剂盒(离心柱式)	200次

产品简介:

- 碧云天的离心柱式RNAeasy™病毒RNA抽提试剂盒(RNAeasy™ Viral RNA Isolation Kit with Spin Column)是一种基于离心柱法从含病毒的血浆、血清、体液、拭子及细胞及其培养上清、组织等样品中安全、快速、便捷、稳定、高效、高质量地抽提长度大于200个核苷酸(nucleotide, nt)的病毒RNA的试剂盒。抽提获得的大于200个核苷酸的病毒RNA样品(可能同时含有样品中的其它RNA)可以用于各种常规用途。
- 本试剂盒抽提得到的病毒RNA可用于qRT-PCR、反转录、RT-PCR、qPCR、Northern、点杂交(Dot Blot)、纯化mRNA、体外翻译、RNase protection assay、cDNA克隆等下游实验;也可用于基因表达芯片分析(microarray)、高通量测序(high throughput sequencing)等对RNA质量要求较高的情况。
- 本试剂盒抽提病毒RNA的基本流程如图1所示。样品在裂解液中迅速裂解,释放出总RNA,然后让RNA特异性地结合到纯化柱上,而蛋白质等其它组分通过高速离心被有效去除,再通过3次洗涤充分去除非特异性结合的蛋白、盐等杂质,最后用洗脱液将高纯度的RNA洗脱下来。

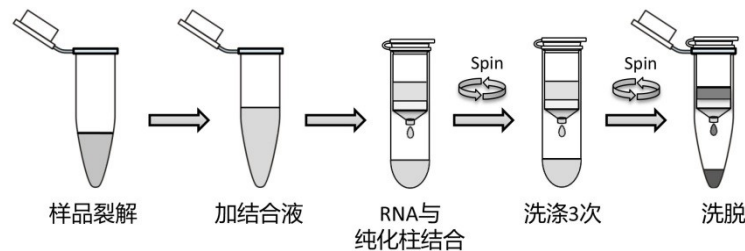


图1. 离心柱式病毒RNA抽提流程示意图

- **本试剂盒使用安全。**本试剂盒通过特殊的柱纯化介质进行病毒RNA分离纯化,能有效避免传统的Trizol法抽提时使用的酚、氯仿等有毒有害有机试剂。
- **本试剂盒使用快速、便捷。**本试剂盒采用柱纯化,无需繁琐的病毒RNA沉淀步骤,抽提操作过程仅15-20分钟。相比于传统的Trizol抽提法,本试剂盒的操作流程显著简化,缩短了抽提时间,降低了病毒RNA被降解的风险。和国外同类柱纯化产品相比,所需操作步骤和操作时间基本一致。
- 本试剂盒适用于含病毒的血浆、血清、体液、拭子及细胞及其培养上清、组织等样品中病毒RNA的抽提,为提高病毒RNA的提取量,建议自备carrier RNA。Carrier RNA一方面可以提高微量病毒RNA在纯化过程中与纯化柱的结合效率和洗脱效率;另一方面可以降低被可能存在的痕量残留RNase降解的风险。Carrier RNA在病毒含量较少的情况下效果更为明显。Carrier RNA推荐购买碧云天的R0036 Carrier RNA(病毒RNA等抽提用)。
- 本试剂盒小包装R0035S可用于12个样品的RNA抽提,中包装R0035M可用于50个样品的RNA抽提,大包装R0035L可用于200个样品的RNA抽提。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
R0035S-1	裂解液	8ml
R0035S-2	结合液	8ml
R0035S-3	洗涤液I	8ml
R0035S-4	洗涤液II	15ml
R0035S-5	洗脱液	1.2ml
R0035S-6	RNA纯化柱及废液收集管	12套
R0035S-7	RNA洗脱管	12个
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
R0035M-1	裂解液	32ml
R0035M-2	结合液	32ml
R0035M-3	洗涤液I	32ml
R0035M-4	洗涤液II	63ml
R0035M-5	洗脱液	5ml
R0035M-6	RNA纯化柱及废液收集管	50套
R0035M-7	RNA洗脱管	50个
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
R0035L-1	裂解液	125ml
R0035L-2	结合液	125ml
R0035L-3	洗涤液I	125ml
R0035L-4	洗涤液II	125ml×2
R0035L-5	洗脱液	15ml
R0035L-6	RNA纯化柱及废液收集管	200套
R0035L-7	RNA洗脱管	200个
—	说明书	1份

保存条件：

室温保存，一年有效。

注意事项：

- 如果样品中含有细胞或组织，不影响病毒RNA的抽提，但须注意抽提获得的病毒RNA中包含细胞或组织的RNA。
- 为提高病毒RNA的提取量，推荐使用碧云天的Carrier RNA (病毒RNA等抽提用) (R0036)或自备carrier RNA。
- 本试剂盒提供的所有试剂和耗材都是RNase-free，操作时应小心，避免被污染。所有自行准备的试剂和耗材也都应是RNase-free。如果可能有RNase污染，可考虑用0.01%的DEPC水浸泡过夜，然后高温高压灭菌并烘干。操作时应避免对着样品或所使用的试剂盒耗材呼气或说话，以防RNase污染。建议戴一次性口罩操作。
- 对于操作环境中RNA酶的去除，推荐使用碧云天生产的RNase and DNase Away (R0123)以去除实验桌面上或其它接触面上的RNase。
- 使用冻存的样品抽提RNA的效果通常比新鲜的样品差一些。因为在样品冻融过程中一些RNase会被释放出来并消化样品中的RNA，建议尽量避免冻融。对于病毒样品，推荐使用碧云天生产的RNALater™病毒RNA稳定保存液(R0141)进行保存以保证样品RNA的完整性。
- 本试剂盒所有操作均在室温进行，操作时无需冰浴。所有离心也均在室温进行。
- 废液收集管在一次抽提中需多次使用，切勿中途丢弃。
- 结合液、洗涤液中含有乙醇，使用后须旋紧瓶盖以防挥发，并须按照易燃试剂的相关规范进行存放和使用。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明：

1. 样品的准备。

a. 液体样品的准备。

含病毒的血浆、血清、无细胞体液、拭子、细胞培养上清等样品，按照常规方法取样。每100μl液体样品加入300μl裂解液。轻轻颠倒混匀3-5次。

选做：为提高病毒RNA的提取量，建议在不含或含很少细胞或者组织的样品中加入carrier RNA。推荐使用碧云天的R0036 Carrier RNA (病毒RNA等抽提用)，或使用下面方法提取：取任意新鲜的细胞或组织，用抽提试剂盒(推荐R0024/R0026/R0027 RNAeasy™动物RNA抽提试剂盒(离心柱式))或Trizol法提取RNA (R0011、R0016)，作为carrier RNA。每个病毒样品需要2-5μg carrier RNA，直接添加至裂解液中即可。

b. 细胞样品的准备。

收集50-100万左右带有病毒的细胞。对于悬浮细胞，1000-2000×g离心1分钟后弃上清，加入300μl裂解液，轻轻吹打8-10次至固悬物溶解、溶液澄清；对于贴壁细胞，吸净培养液后加入300μl裂解液，轻轻吹打5-10次至固悬物溶解、溶液澄清，转移至一洁净离心管内。

c. 组织样品的准备。

取15-20mg带有病毒的动物组织，置于液氮中研磨成粉末，立即加入600μl裂解液。也可将组织置于1.5ml离心管中，迅速加入600μl冰浴预冷的裂解液，用微型电动匀浆器匀浆，或者用普通玻璃匀浆器进行匀浆。研磨或匀浆后，轻轻吹打匀浆

液8-10次，室温放置3-5分钟。然后约14,000×g离心2分钟，将上清液移至新的离心管中。对于比较容易裂解且匀浆很充分的组织(如肝组织、脑组织等)可以不用高速离心而直接进入步骤2。

注意：细胞的数量一般不超过500万，不超过100万细胞宜使用300μl裂解液，多于100万细胞宜使用600μl裂解液。动物组织的用量一般不超过30mg，用量过多可能会因裂解不充分导致得率下降。组织样品在裂解和离心后，离心管下部可能会有一些胶状物质，宜作为上清转移至下一步操作。如果弃除胶状物，会导致得率下降约30-50%。后续加入结合液后胶状物会消失。离心是为了去除未匀浆充分的明显块状物。如果裂解后仍有粘稠物，需增加吹打次数至溶液完全澄清。对于富含RNase的样品，裂解液中宜添加DTT至终浓度为40mM或添加β-巯基乙醇至终浓度为1%。

2. 加入等体积(指病毒样品和裂解液的总体积)结合液至裂解液中，轻轻颠倒混匀3-5次。此时可能会有沉淀物产生，属于正常现象。

3. 将混合物(包括沉淀物)转移至纯化柱内，12,000×g离心30秒，倒弃收集管内液体。

注意：当裂解液的体积大于300μl时，在加入等体积结合液后，总体积会超过纯化柱的容量，这时应分成2次过柱，即将一半的混合物过柱后，再将剩余的混合物重复步骤3一次。对于一些特殊的样品，如出现溶液未完全通过时，可延长离心时间至1-2分钟，或者加大离心力至16,000×g。对于一些能快速启动达到12,000×g的离心机，离心30秒已经足够，对于一些启动速度缓慢的离心机本步骤及后续步骤中的30秒离心宜调整为60秒。

4. 加入600μl洗涤液I，12,000×g离心30秒，倒弃收集管内液体。

5. 加入600μl洗涤液II，12,000×g离心30秒，倒弃收集管内液体。

6. 重复步骤5一次。

7. 最高速(约14,000-16,000×g)离心2分钟，去除残留的液体。

8. 将RNA纯化柱置于本试剂盒提供的RNA洗脱管中，加入30-50μl洗脱液，室温放置2-3分钟，最高速离心30秒，所得溶液即为纯化的病毒RNA样品。样品病毒RNA提取量可能会较少，用紫外分光光度计较难测出，建议用qRT-PCR法检测(推荐使用碧云天生产的D7277 BeyoFast™ Probe One-Step qPCR Mix或者D7268 BeyoFast™ SYBR Green One-Step qRT-PCR Kit)。不同数量的新冠病毒N基因慢病毒保存在含咽拭子的病毒样品常规保存液(R0143)中，用本试剂盒提取病毒后使用新型冠状病毒(2019-nCoV)双荧光qRT-PCR试剂盒进行检测，此处的病毒量为每个PCR反应体系中病毒的IU数。

Amount of virus (IU/Reaction)		400	40	4
Ct Value	Replicate 1	24.58	27.93	32.19
	Replicate 2	25.07	28.27	31.58
	Replicate 3	25.21	28.05	31.73
	Average	24.95	28.09	31.84

注意：洗脱液需要加到纯化柱柱面中央，使其被完全吸收。如需获得更高浓度的样品，可把洗脱液的体积减小至20μl，但洗脱下来的RNA量会相对减少。室温较低时，洗脱液在37℃预热片刻对得率有所帮助。此外，洗脱后的溶液再次加回到原纯化柱再离心洗脱一次，可提高得率约10-30%；或者在第一次洗脱后使用新的洗脱液再洗脱一次，会获得约为第一次洗脱量15-40%的RNA。

相关产品：

产品编号	产品名称	包装
R0035S	RNAeasy™病毒RNA抽提试剂盒(离心柱式)	12次
R0035M	RNAeasy™病毒RNA抽提试剂盒(离心柱式)	50次
R0035L	RNAeasy™病毒RNA抽提试剂盒(离心柱式)	200次
R0036-200μg	Carrier RNA(病毒RNA等抽提用)	200μg
R0036-1mg	Carrier RNA(病毒RNA等抽提用)	1mg
R0118-100ml	RNA Later™动物组织RNA稳定保存液	100ml
R0118-500ml	RNA Later™动物组织RNA稳定保存液	500ml
R0141-100ml	RNA Later™病毒RNA稳定保存液	100ml
R0141-500ml	RNA Later™病毒RNA稳定保存液	500ml
R0143-100ml	病毒样品常规保存液	100ml
R0143-500ml	病毒样品常规保存液	500ml
R0145-100ml	BeyoDirect™ RNA病毒直接qRT-PCR保存液	100ml
R0145-500ml	BeyoDirect™ RNA病毒直接qRT-PCR保存液	500ml
ST087-250g	盐酸胍(≥99%, BioReagent)	250g
ST087-1kg	盐酸胍(≥99%, BioReagent)	1kg
ST087-6kg	盐酸胍(≥99%, BioReagent)	6kg
ST087-25kg	盐酸胍(≥99%, BioReagent)	25kg
ST089-100g	异硫氰酸胍(≥99%, Reagent grade)	100g
ST089-500g	异硫氰酸胍(≥99%, Reagent grade)	500g

ST089-2.5kg	异硫氰酸胍($\geq 99\%$, Reagent grade)	2.5kg
ST532	Proteinase K (20mg/ml)	0.2ml
ST533	Proteinase K (20mg/ml)	1ml
ST535-100mg	Proteinase K	100mg
ST535-500mg	Proteinase K	500mg
ST535-2g	Proteinase K	2g

Version 2020.11.25