

RNA 病毒基因组提取试剂盒

货号：R2000

规格：50T/100T

保存：室温（15℃-25℃）干燥条件下可保存 1 年。（附件：蛋白酶 K（FJR2000），收到后请保存于-20℃）。

产品内容：

试剂盒组成	R2000-50	R2000-100
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（仅供参考）：

使用前请先在漂洗液中加入 60ml 无水乙醇。所有离心步骤均在 2-8℃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 20μl 10mg/ml 的蛋白酶 K，充分混匀，65℃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 700μl 洗柱液，室温放置 2 分钟，2-8℃ 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 500μl 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 750μl，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 700μl 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 500μl 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℃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 50μl-100μl 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。

相关产品：

R1600	无酶无菌水
SR0060	液相 RNase 清除剂
SR0040	固相 RNase 清除剂
R1050	5×RNA Loading Buffer(非变性)
SR0020	RNA wait(非冻型组织 RNA 保存液)
M1010	10×MOPS 缓冲液
SY1040	SYBR Green II RNA
R1100	TriQuick Reagent 总 RNA 提取试剂
R1200	总 RNA 提取试剂盒

