

For research use only

Version Number : 2.1

Viral RNA Isolation Kit

For viral RNA from buccal swab, plasma, serum, cell-free body fluids, cell-culture supernatants

试剂盒组成	RE-02011	RE-02014
	50 T	200 T
Linear Acrylamide	100 μL	400 μL
Buffer viRL*	25 mL	100 mL
Buffer viRW1	25 mL	100 mL
Buffer viRW2	24 mL	96 mL
RNase-Free ddH ₂ O	10 mL	40 mL
RNA-Only Column	50 套	200 套
说明书	1 份	1 份

*: Buffer viRL 中含有具刺激性的离液盐，操作时请注意戴上手套和进行相关防护措施。

产品简介

该试剂盒采用本公司研制的离心柱和配方，可以从口腔拭子、血浆、血清、无细胞体液和细胞培养上清液等样品中高效率分离纯化病毒的 RNA。试剂盒特别加入了 Linear Acrylamide，可以从体系中轻松捕获微量 RNA，具有方便快捷、产量高、重复性好的特点。

全体系 RNase-Free，使得提取的病毒 RNA 无降解；Buffer viRW1、Buffer viRW2 缓冲液洗涤体系，使得获得的 RNA 纯度极高。

储存条件

本试剂盒在常温(15–25℃)干燥条件下，可保存 24 个月；如需保存更长时间可置于 2–8℃。Linear Acrylamide 溶液，可置于-20℃冷冻保存；Buffer viRL 加入 Linear Acrylamide 后，在 2-8℃能最多保存 48h，请现用现配。

注意：若低温保存，溶液容易产生沉淀。在使用前务必将试剂盒内的溶液在室温中放置一段时间，必要时可在 37℃水浴中预热 10 分钟，以溶解沉淀，混匀后再使用。

RNA 提取得率与纯度

使用病毒 RNA 提取试剂盒可以从口腔拭子、血浆、血清、无细胞体液和细胞培养上清液等样品中纯化得到的病毒 RNA，其产量与样本本身、样本初始量、样本新鲜程度、样本保存时间以及操作相关。

注意事项：(请务必在使用试剂盒前仔细阅读注意事项)

- ◆ 所有实验步骤均在常温(15-25℃)进行(包括离心)，**切勿使用冰浴和低温(4℃)离心。**
- ◆ 样品应避免反复冻融，否则会导致提取的 miRNA 降解且提取量也会下降。
- ◆ 液体样品处理量不要超过 200 μL，否则会影响病毒 RNA 产量和纯度。
- ◆ Buffer viRL 加入 Linear Acrylamide 后，在 2-8℃能最多保存 48h，**请现用现配。**
- ◆ 试剂盒使用前，请在 Buffer viRW2 中添加无水乙醇，加入量请参照试剂瓶上标签。
- ◆ RNA 产率和质量与洗脱体积和样本处理量有关，建议每 500 μL Buffer viRL 使用样品量：液体样本 200 μL、口腔拭子 1 根。
- ◆ 洗脱体积：洗脱液体积不应少于 30 μL，否则会影响 RNA 回收效率。
- ◆ 请检查试剂盒中的 Buffer viRL 是否有晶体析出现象，若低温存放后有晶体析出，可将 Buffer 放置于室温或 37℃一段时间，将晶体溶解后混匀再使用。

操作步骤(全程常温(15-25°C)操作，切勿冰浴和低温离心)

使用前请先在 Buffer viRW2 中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶上的标签。

1. 用移液器将 **500 μL** Buffer viRL 和 **2 μL** Linear Acrylamide 加入一个干净的 2 mL 离心管中，来回颠倒混匀。

注意: 为避免溶液出现起泡现象, 勿使用涡旋振荡。随着样品个数增加, 等比例同时放大 Buffer viRL 与 Linear Acrylamide 溶液的添加量。如果样本体积大于 200 μL, 可等比例增加工作液的用量。
2. 按下述方式进行样本处理:

2a. 液体样本: 向步骤 1 的离心管中加入 **200 μL** 血浆/血清/无细胞体液/细胞培养上清液(样品需平衡至室温)。涡旋振荡 15 sec 混匀。为了保证裂解充分，样品和 Linear Acrylamide 工作液需要彻底混匀。

2b. 口腔拭子: 将一根取得样本的口腔拭子，将棉签部分剪下，放置于步骤 1 的离心管中，涡旋混匀。
3. 在室温(15-25°C)孵育 10 min。

注意: 如果样本为口腔拭子孵育完成后弃掉口腔拭子。
4. 简短离心以收集附着在管壁及管盖的液体。
5. 加入 **350 μL** 异丙醇，盖上管盖并涡旋振荡 15 sec。
6. 简短离心以收集附着在管壁及管盖的液体。
7. 小心将离心管中的 **750 μL** 混合液转移至 RNA-Only Column 中(RNA-Only Column 放入收集管中)，盖上管盖，**8,000 rpm** (~6,000 ×g)离心 1 min，弃掉收集管中的废液。

注意: 如果混合液中出现絮状沉，请将沉淀一并转移至 RNA-Only Column 中。如果混合液大于 750 μl，请分两次或多次转移通过 RNA-Only Column，以完全收集混合液中的 RNA，提高得率。如果吸附柱上的液体未能全部离心至收集管中，请加大转速，延长离心时间至液体完全转移到收集管中。
8. 将 RNA-Only Column 放回收集管中，将剩余混合液全部加入 RNA-Only Column 中，**8,000 rpm** (~6,000 ×g)离心 1 min，弃掉收集管中的废液。

9. 向 RNA-Only Column 中加入 **500 μL** Buffer viRW1，**8,000 rpm** (~6,000 ×g)离心 1 min，弃掉收集管中的废液。
10. 向 RNA-Only Column 中加入 **700 μL** Buffer viRW2(使用前请确认已按照说明加入无水乙醇)，**8,000 rpm** (~6,000 ×g)离心 1min，弃掉收集管中的废液。
11. 重复步骤 10。
12. 将 RNA-Only Column 放回收集管中，12,000 rpm (~13,400 ×g)空管离心 2 min，弃掉收集管。
13. 将 RNA-Only Column 转移至新的离心管中，向 RNA-Only Column 的膜中央滴加 **30-50 μL** 已于 65°C预热的 RNase-Free ddH₂O(切勿将洗脱液添加到压圈上，否则会损失较大体积的洗脱液)，室温放置 2 min。12,000 rpm (~13,400 ×g)离心 1 min 收集 RNA 溶液。

注意: RNase-Free ddH₂O 加入体积不应低于 30 μL，体积过小会影响洗脱效率。为提高 RNA 产量，可将离心得到的 RNA 溶液重新加至 RNA-Only Column 中，重复步骤 13。得到的 RNA 溶液可直接用于下游实验或置于-80°C保存。