

版本号: SD150819

TIANamp RNA Kit for Virus Detection

病毒检测用RNA提取试剂盒

(离心柱型)

目录号: SD101

产品内容

| 产品组成 | SD101 (50 preps) |
|--|---------------------|
| 裂解液RV+(Buffer RV+) | 30 ml |
| 缓冲液GD(Buffer GD) | 13ml |
| 漂洗液RW(Buffer RW) | 12 ml |
| RNase-Free ddH ₂ O (瓶装) | 15 ml |
| Carrier RNA | 310 µg |
| RNase-Free ddH ₂ O (管装) | 1 ml |
| RNase-Free吸附柱CR2 (含2 ml收集管) (RNase-Free Spin Column CR2 in a 2 ml Collection Tube) | 50 套 |
| RNase-Free收集管 (2 ml) (RNase-Free Collection Tubes 2 ml) | 4 × 50个 |
| RNase-Free超净离心管 (1.5 ml) (SuperPure RNase-Free Centrifuge Tubes 1.5 ml) | 50个 |

储存条件

1 所有的缓冲液在室温 (15-25°C) 保存。

2 Carrier RNA冻干粉能够在室温储存至有效期。Carrier RNA先溶解在RNase-Free ddH₂O中, 然后再将Carrier RNA溶液加入裂解液RV+中混匀 (具体方法请见注意事项中Carrier RNA的溶解说明, 溶于RNase-Free ddH₂O中的Carrier RNA溶液, 可置于-20°C冷冻保存; 而将Carrier RNA溶液加入裂解液RV+后, 在2-8°C能保存最多48小时, 请现用现配)。

产品简介

本试剂盒采用可以特异性结合病毒RNA的离心吸附柱和独特的缓冲液系统，适用于从140-560 μl血浆/血清/淋巴液/无细胞体液/细胞培养上清液/尿液/拭子/粪便样本中提取病毒的RNA，该试剂盒配备了Carrier RNA用于充分收集微量RNA。离心吸附柱中采用的硅基质材料为本公司特有新型材料，高效、专一吸附RNA，可最大限度去除杂质蛋白等。提取的病毒RNA纯度高，质量稳定可靠，可适用于各种下游应用实验，如反转录和RT-PCR。

注意事项： 请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项。

1. 所有的离心步骤均在室温下进行（15-25℃）。
2. 将样品平衡至室温。
3. 试剂盒中提供的RNase-Free超净离心管（1.5 ml）供第13步洗脱步骤使用，其余1.5 ml离心管需自备。
4. Carrier RNA溶液的配制如下：

- 向装有310 μg Carrier RNA冻干粉的管子中加入310 μl RNase-Free ddH₂O，将Carrier RNA彻底溶解，得到终浓度为1 μg/μl的溶液，并按实验情况分装到RNase-Free的离心管中，置于-20℃储存。使用时按照提取的次数取出相应的溶液，该溶液应避免反复冻融，冻融次数不能超过3次。
- 注意Carrier RNA冻干粉不能直接溶解于裂解液RV+中，必须先溶解在RNase-Free ddH₂O中，再溶解至缓冲液RV+中。
- **Carrier RNA工作液：根据样品的数量计算所需裂解液RV+和Carrier RNA溶液的体积（见表1或使用以下公式计算），将裂解液RV+与Carrier RNA溶液颠倒混合，即得到Carrier RNA工作液；为避免溶液出现起泡现象，请勿使用涡旋振荡。**

如果需要提取大量的样品，可根据以下公式计算：

$$n \times 0.56 \text{ ml} = y \text{ ml}$$

$$y \text{ ml} \times 10 \text{ μl/ml} = z \text{ μl}$$

n=同时提取的样品个数， y=需要加入裂解液RV+的体积， z=需要加入Carrier RNA溶液的体积

表1 中Carrier RNA工作液的配制

| 样品个数 | RV+(ml) | Carrier RNA水溶液(μl) | 样品个数 | RV+(ml) | Carrier RNA水溶液(μl) |
|------|---------|--------------------|------|---------|--------------------|
| 1 | 0.56 | 5.6 | 13 | 7.28 | 72.8 |
| 2 | 1.12 | 11.2 | 14 | 7.84 | 78.4 |
| 3 | 1.68 | 16.8 | 15 | 8.40 | 84.0 |
| 4 | 2.24 | 22.4 | 16 | 8.96 | 89.6 |
| 5 | 2.80 | 28.0 | 17 | 9.52 | 95.2 |
| 6 | 3.36 | 33.6 | 18 | 10.08 | 100.8 |
| 7 | 3.92 | 39.2 | 19 | 10.64 | 106.4 |
| 8 | 4.48 | 44.8 | 20 | 11.20 | 112.0 |
| 9 | 5.04 | 50.4 | 21 | 11.76 | 117.6 |
| 10 | 5.60 | 56.0 | 22 | 12.32 | 123.2 |
| 11 | 6.16 | 61.6 | 23 | 12.88 | 128.8 |
| 12 | 6.72 | 67.2 | 24 | 13.44 | 134.4 |

注意：请将裂解液RV+与Carrier RNA溶液颠倒混匀，即得到Carrier RNA工作液；为避免溶液出现起泡现象，请勿使用涡旋振荡。

操作步骤

1. 用移液器将560 μl Carrier RNA 工作液（为裂解液RV+与Carrier RNA 溶液的混合液，配制方法如表1或按照公式计算）加入一个干净的1.5 ml离心管中。

注意：如果样本体积大于140 μl，可等比例增加工作溶液和无水乙醇的用量。

2. 向离心管中加入140 μl血浆/血清/淋巴液/无细胞体液/细胞培养上清液/尿液（样品需平衡至室温）。涡旋振荡15 sec混匀。

其它样本，如鼻、咽拭子/粪便需要通过以下方式进行预处理。

鼻拭子/咽拭子：取样后与生理盐水或病毒运输液彻底颠倒或涡旋振荡混匀后取140 μl加入上述离心管中，涡旋振荡15 sec混匀。

粪便样本：0.5-1 ml粪便样本悬浮于5 ml生理盐水中，彻底涡旋振荡混匀后，4,000×g (6,000 rpm)离心20 min后取上清140 μl加入上述离心管中，涡旋振荡15 sec混匀。

注意：为了保证裂解充分，样品和Carrier RNA工作液需要彻底混匀。

3. 在室温（15-25）°C 孵育10 min

4. 简短离心以收集附着在管壁及管盖的液体。

5. 加入560 μl 无水乙醇，盖上管盖并涡旋振荡15 sec。

注意：如果周围环境高于30℃，乙醇需要再在冰上预冷后再加入。

6. 简短离心以收集附着在管壁及管盖的液体。

7. 仔细将离心管中的630 μl 液体转移至RNase-Free吸附柱CR2（吸附柱放在2 ml收集管中），盖上管盖，6,000 \times g (8,000 rpm) 离心1 min，弃掉装有废液的收集管，将吸附柱放入一个新的2 ml收集管中。

注意：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. 重复步骤7。

9. 小心打开吸附柱盖子，加入500 μl 溶液GD（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），盖上管盖，6,000 \times g (8,000 rpm)离心1 min，弃掉装有废液的收集管，将吸附柱放入一个新的2 ml收集管中。

10. 小心打开吸附柱盖子，加入500 μl 溶液RW（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），盖上管盖，6,000 \times g (8,000 rpm) 离心1 min，弃掉装有废液的收集管。

11. 将吸附柱放入一个新的2 ml收集管中，13,400 \times g (12,000 rpm)离心3 min，使吸附膜完全变干，弃废液。

注意：乙醇的残留可能会对后续实验造成影响。

12. 可选步骤：将吸附柱放回1.5 ml离心管（自备）中，打开吸附柱盖子，室温放置3 min，使吸附膜完全变干。

13. 将吸附柱放入一个RNase-Free超净离心管（1.5 ml）中，小心打开吸附柱的盖子，向膜中央加入60 μl RNase-Free ddH₂O，盖上盖子，室温放置5 min。6,000 \times g (8000 rpm)离心1 min。

注意：确保洗脱液（RNase-Free ddH₂O）在室温平衡后再使用。如果加入洗脱液的体积很小（小于50 μl ），为了将膜上的RNA充分洗脱下来，应注意将洗脱液加到膜的中央位置。洗脱体积可以根据后续的实验要求灵活处理，洗脱液（RNase-Free ddH₂O）加到吸附柱后，离心前在室温放置5 min，有助于提高RNA的产量。
