

病毒总 RNA 快速提取试剂盒

货号: NG310S 50 次
NG310M 100 次

适用范围: 适用于快速提取全血, 血清, 血浆等 (液体样本) 高纯度总 RNA

试剂盒组成	保存	50 次	100 次
裂解液 VLS	4°C避光	50 ml	100 ml
核酸助沉剂 (Carrier)	-20°C	200ul	400ul
去蛋白液 RE	室温	25 ml	50 ml
漂洗液 RW	室温	10 ml	25 ml
		第一次使用前按说明加指定量乙醇	
RNase-free H2O	室温	10 ml	20 ml
70%乙醇	室温	9 ml	18 ml
		第一次使用前按说明加指定量乙醇	
RNase-free 微量吸附柱 RD	室温	50 个	100 个
收集管 (2ml)	室温	50 个	100 个

储存事项:

所有的溶液应该是澄清的, 如果环境温度低时溶液可能形成沉淀, 此时不应该直接使用, 可在 37°C水浴加热几分钟, 即可恢复澄清。不合适的储存于低温 (4°C或者 -20°C) 会造成溶液沉淀, 影响使用效果, 因此运输和储存均在室温下 (15°C - 25°C) 进行。裂解液 VLS 可以常温运输, 收到后 4°C避光保存。避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、PH 值变化, 各溶液使用后应及时盖紧盖子。

产品介绍:

改进的异硫氰酸胍/酚一步法裂解细胞和灭活 RNA 酶, 然后总 RNA 在高离子盐状态下选择性吸附于离心柱内硅基质膜, 再通过一系列快速的漂洗 - 离心的步骤, 去蛋白液和漂洗液将细胞代谢物、蛋白等杂质去除, 最后低盐的 RNase free water 将纯净 RNA 从硅基质膜上洗脱。

产品特点:

1. 结合了异硫氰酸胍/酚一步法试剂稳定性好, 纯度高和离心柱方便快捷的优点, 不需要异丙醇沉淀和乙醇洗涤过程, RNA 可以直接从离心柱上洗脱避免了过度干燥不易溶解问题。
2. 独有的 VLS 裂解液配方, 结合核酸助沉系统, 可直接裂解病毒样本抑制降解。多次漂洗去蛋白过程, 使 RNA 纯度更高。

注意事项:

1. **第一次使用前请先在漂洗液RW瓶和70%乙醇瓶中加入指定量乙醇**, 加入后请及时打钩标记已加入乙醇, 以免多次加入!
2. 所有离心步骤如未加说明, 均在室温进行。
3. 裂解液VLS和去蛋白液RE中含有刺激性有害化合物, 操作时要戴乳胶手套, 避免沾染皮肤、眼睛和衣服。若沾染皮肤、眼睛时, 要用大量清水或者生理盐水冲洗。
4. 考虑到环保问题, 本试剂盒不含有实验室常用试剂氯仿, 用户使用前需要自备氯仿。
5. 常规的琼脂糖凝胶电泳和变性胶电泳均可以用来分析RNA的质量。好的RNA产物在电泳后应该可以看到明显的二条优势核糖体RNA带, 分别为~5Kb (28S), ~2Kb (18S), 条带亮度比值约为2: 1。有时候也可以看到~0.1kb和0.3Kb(5S, tRNA)带。但有时候根据不同的物种如某些植物组织可以看到4, 5条带也属于正常现象, 如果RNA未成熟的前体或者不均一核RNA、小核RNA提取出来也可能看到介于7Kb和15Kb之间的不连续的高分子量条带。
6. 检测OD₂₆₀/OD₂₈₀吸光度比值时, RNA样品应该溶于TE后检测, 如果用水稀释后检测, 由于一般水离子强度和PH值低, 会使OD₂₈₀升高, 从而使比值降低。
7. 加入裂解液VLS后, 加氯仿前, 样品可在 -60°C-70°C 保存一个月以上。

关于DNA 的微量残留:

一般说来任何总 RNA 提取试剂在提取过程中无法完全避免 DNA 的微量残留, 在大多数 RT-PCR 扩增过程中极其微量的 DNA 残留 (一般电泳 EB 染色紫外灯下观察不可见) 影响不是很大, 如果要进行严格的 mRNA 表达量分析如荧光定量 PCR, 我们建议在进行模板和引物的选择时:

1. 选用跨内含子的引物,以穿过 mRNA 中的连接区,这样 DNA 就不能作为模板参与扩增反应。
2. 选择基因组 DNA 和 cDNA 上扩增的产物大小不一样的引物对。
3. 将 RNA 提取物用 RNase-free 的 DNase I 处理。
4. 在步骤去蛋白液 RE 漂洗前, 直接在吸附柱 RA 上进行 DNase I 消化处理。

操作步骤: (实验前请先阅读注意事项)

提示: 第一次使用前请先在漂洗液 RW 瓶和 70%乙醇瓶中加入指定量乙醇!

1. 每0.25 ml 液体样品(病毒样本)加入0.75 ml 裂解液VLS (4ul carrier), 用加样枪吹打液体样品几次以帮助裂解样品中细胞。每 $5\sim 10\times 10^6$ 个细胞至少加入0.75 ml 裂解液VLS。裂解液VLS 和液体样品的终体积比总是3: 1。将样品剧烈震荡混匀, 在15 -30°C条件下孵育5 min 以使核蛋白体完全分解。
2. 每0.75 ml 裂解液VLS加150ul 氯仿, 剧烈振荡15 sec 并室温下放置2 min。于4°C 12, 000 rpm 离心10 min, 样品会分成三层: 下层有机相, 中间层和上层无色的水相, RNA存在于水相中。水相层的容量大约为所加VLS体积的70%, 把水相转移到新管中, 进行下一步操作。
3. 加入1倍体积70%乙醇 (请先检查是否已加入无水乙醇!), 颠倒混匀 (此时可能会出现沉淀)。得到的溶液和可能沉淀一起转入微量吸附柱RD中 (吸附柱套在收集管内)。
4. 12000 rpm 离心45 sec, 弃掉废液, 将吸附柱重新套回收集管。
5. 加500 μ l 去蛋白液RE, 12000 rpm 离心45 sec, 弃掉废液。
6. 加入500 μ l 漂洗液RW (请先检查是否已加入无水乙醇!), 12000 rpm 离心45 sec, 弃掉废液。
7. 加入500 μ l 漂洗液RW, 12,000 rpm 离心45 sec, 弃掉废液。
8. 将微量吸附柱RD放回空收集管中, 13,000 rpm离心2 min, 尽量除去漂洗液, 以免漂洗液中残留乙醇抑制下游反应。
9. 取出微量吸附柱RD, 放入一个RNase free离心管中, 根据预期RNA产量在吸附膜的中间部位加15-35 μ l RNase free water (事先在 65-70°C水浴中加热效果更好), 室温放置2 min, 12000 rpm 离心1 min。如果需要较多RNA, 可将得到的溶液重新加入离心吸附柱中, 离心1分钟,或者另外再加30 μ l RNase free water, 离心1 min, 合并两次洗脱液。