



## Viral RNA Isolation Kit

Cat.No.RE-02011/02012/02014

For purification of viral RNA from plasma,serum,cell-free body fluids,cell-culture supernatants

For research use only

Store at room temperature



## 目 录

产品介绍	3
产品特点	3
试剂盒应用	4
RNA 的应用	4
RNA 的储存	4
产品质量控制	4
试剂盒内容	5
产品信息	5
储存条件	5
试剂盒组分信息	6
RNA-only Column 特性	6
RNA 提取得率与纯度	6
注意事项	7
操作前准备事项	8
实验材料和设备	8
自备试剂	8
安全性	8
操作指南	9
样品的保存	9
样品在 Buffer viRL 中保存	9
样品初始用量	9
材料取用说明	9
预防 RNase 污染	10
基因组 DNA 污染及清除	10
● 病毒 RNA 提取操作步骤	11
RNA 浓度及纯度检测	13
快速操作示意图	14
问题分析指南	15

## 产品介绍

该试剂盒采用本公司研制的离心柱和配方，可以从血浆、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。RNA-Only Column 能高效的结合 RNA，搭配独特的配方，可以同时处理大量样品。

全体系 RNase-Free，使得纯化得到的病毒 RNA 无降解；Buffer viRW1、Buffer viRW2 缓冲液洗涤体系，使得获得的病毒 RNA 无蛋白、核酸酶或其它杂质的污染，可直接用于下游分子生物学实验。

## 产品特点

- ◆ 全程常温(15-25°C)操作，无需冰浴和低温离心。
- ◆ 整套试剂盒 RNase-Free，无需担心 RNA 降解。
- ◆ RNA 得率高：RNA-Only Column 和独特配方搭配能高效的纯化 RNA。
- ◆ 速度快：操作简便，可在 30 分钟内完成。
- ◆ 安全：无需有机试剂抽提。
- ◆ 质量高：提取得到的病毒 RNA 纯度高，没有蛋白和其它杂质污染，能够满足下游各种实验应用。

## 试剂盒应用

适用于血浆、血清、无细胞体液和细胞培养上清液等样品中病毒 RNA 提取纯化。

## 病毒 RNA 的应用

病毒 RNA 提取试剂盒纯化得到的病毒 RNA 可用于各种下游分子实验,例如: RT-PCR、Real Time PCR、Northern Blot、芯片分析、分子克隆等。

## RNA 的储存

建议使用 RNase-Free ddH<sub>2</sub>O 洗脱 RNA, 即时用于下游实验或储存于-80°C。在-80°C 存储条件下, RNA 可保存一年。

## 产品质量控制

按照福际生物试剂盒质量检测体系标准(FOREGENE's Total Quality Management System), 每一批次的病毒 RNA 提取试剂盒都严格进行多次测试, 确保每一批次试剂盒质量的可靠性和稳定性。

## 试剂盒内容

Viral RNA Isolation Kit 病毒 RNA 提取试剂盒				
试剂盒组成	RE-0201T	RE-02011	RE-02012	RE-02014
	5 次	50 次	100 次	200 次
Linear Acrylamide	12 $\mu$ l	120 $\mu$ l	240 $\mu$ l	480 $\mu$ l
Buffer viRL*	3ml	25ml	50ml	100ml
Buffer viRW1*	3ml	25ml	50ml	100ml
Buffer viRW2	2.4ml	24ml	48ml	96ml
RNase-Free ddH <sub>2</sub> O	1.5ml	10ml	20ml	40ml
RNA-Only Column	5 套	50 套	100 套	200 套
说明书	1 份	1 份	1 份	1 份

\*: Buffer viRL、Buffer viRW1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。

## 产品信息

型号	离心柱型	纯化组件	Foregene 离心柱、试剂
通量	1-24 个样品	制备时间	~30min(24 个样品)
离心机	台式离心机	离心柱液体盛装量	800 $\mu$ l
纯化柱 RNA 承载量	20 $\mu$ g	单次样品处理量	≤200 $\mu$ l
洗脱体积	30-50 $\mu$ l	产量	≥80%回收效率

## 储存条件

本试剂盒在常温(15–25°C)干燥条件下，可保存 24 个月；如需保存更长时间可置于 2–8°C。Linear Acrylamide 溶液，可置于-20°C冷冻保存；Buffer viRL 加入 Linear Acrylamide 后，在 2-8°C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°C水浴中预热 10 分钟，以溶解沉淀，混匀后再使用。

## 试剂盒组分信息

- ◆ Linear Acrylamide: 降低纯化柱的本底吸附，轻松捕获体系中的微量 RNA。
- ◆ Buffer viRL: 提供样本裂解所需的环境以及过柱环境。
- ◆ Buffer viRW1: 去除 RNA 中的蛋白质、DNA 等杂质。
- ◆ Buffer viRW2: 去除 RNA 中残留的盐离子。
- ◆ RNase-Free ddH<sub>2</sub>O: 洗脱纯化柱膜上的病毒 RNA。
- ◆ RNA-Only Column: 特异吸附 RNA 片段。

## RNA-Only Column 特性

RNA最大结合能力(Maximum binding capacity)	20µg
上清最大载量体积(Maximum loading volume)	800µl
RNA片段大小分布(RNA size distribution)	RNA≥200nt
最小洗脱体积(Minimum elution volume) <sup>1*</sup>	30µl
最佳样品选取(Selection of samples)	血浆、血清、无细胞体液或细胞培养上清液等
样品最大初始量(Maximum amount of starting material) <sup>2*</sup>	200µl

1\*: 30µl 的最小洗脱体积是在兼顾 RNA 回收率及浓度给出的比较合理的建议体积。如果为了提高 RNA 的产量，可以适当增加洗脱液体积；如果为了提高纯化得到的 RNA 浓度，在牺牲一部分 RNA 得率的前提下，适当的减少洗脱液体积，比如采用 15µl 的洗脱体积，以期得到更高浓度的 RNA。

2\*: 更大的样本量，请使用多个 RNA-Only Column 进行 RNA 纯化。

## RNA 提取得率与纯度

使用 Viral RNA Isolation Kit 可以从血浆、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。纯化得到的 RNA，其 OD<sub>260/280</sub>=1.8-2.1。

**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°C)进行(包括离心)，切勿使用冰浴和低温(4°C)离心。
- ◆ 样品应避免反复冻融，否则会导致提取的病毒 RNA 降解且提取量也会下降。
- ◆ 样品处理量不要超过 200µl，否则会影响病毒 RNA 产量和纯度。
- ◆ Buffer viRL 加入 Linear Acrylamide 后，在 2-8°C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。不同规格的试剂盒无水乙醇的添加量见下表：

产品规格	无水乙醇添加量
RE-0201T	6ml
RE-02011	60ml
RE-02012	120ml
RE-02014	240ml

- ◆ RNA 产率和质量与洗脱体积和样本处理量有关，建议每 500µl Buffer viRL 使用样品量 200µl。
- ◆ 洗脱体积：洗脱液体积不应少于 30µl，否则会影响 RNA 回收效率。
- ◆ 请检查试剂盒中的 Buffer viRL 和 Buffer viRW1 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°C一段时间，将晶体溶解后混匀再使用。

## 操作前准备事项

使用本试剂盒前，请务必仔细阅读说明书。病毒 RNA 提取试剂盒操作简单、方便、快速，说明书提供了整个试剂盒的正确使用方法。请在使用前准备好必要的实验材料和设备。

## 实验材料和设备

- ◆ 200 $\mu$ l 新鲜或冻存的血浆、血清、无细胞体液或细胞培养上清液。
- ◆ 台式离心机( $\geq 13,400\times g$ )、移液器等。
- ◆ 无菌 RNase-Free 离心管、枪头等。

## 自备试剂

- ◆ 无水乙醇。
- ◆ 异丙醇

## 安全性

- ◆ 本产品仅供科研使用，请勿用于医药、临床医疗、食品及化妆品等用途。
- ◆ 在使用该试剂盒时，请穿戴实验服、一次性乳胶手套、一次性口罩等以保护自身；并最大程度上避免人为引入的 RNase 污染。
- ◆ Buffer viRL 含有离液盐：变性剂，刺激性。
- ◆ Buffer viRW1 含有离液盐：变性剂，刺激性。
- ◆ Buffer viRW2 含有乙醇：易燃。



## 操作指南

试剂盒全程常温(15-25°C)操作，切勿冰浴和低温离心。

### 样品的保存

血浆、血清在采集后，可在 2-8°C 保存 6 个小时。如果需要长期保存，可置于 -20°C 或者 -80°C。保存过程中要避免冻融(不超过一次)，否则会导致核酸得率降低。另外，在冻融过程形成的冷凝蛋白质还会堵塞吸附柱，因此，在样本融解后如果冷凝蛋白肉眼可见，则需要 6800 xg 离心 3 分钟，小心吸出上清。

### 样品在 Buffer viRL 中保存

RNA 在 Buffer viRL 不会受到 RNase 的降解，如果血浆、血清、无细胞体液或细胞培养上清液在加入 Buffer viRL 裂解后如不即时使用，在室温条件下可保存约 24h，在 4°C 中保存约 1 周，更长时间保存请存放于 -80°C，使用时将溶液在室温或 37°C 溶解即可。

### 样品初始用量

正确的样品的初始处理量对于 RNA 的最佳产量及纯度十分必要，样品的最大处理量与下面因素相关：

- ❖ 样品本身的类型以及样本 RNA 的丰度；
- ❖ Buffer viRL 的用量决定了样品的有效裂解；
- ❖ RNA-Only Column 的 RNA 结合能力。

根据上述因素，我们推荐样品的初始处理量不宜超过 200µl。如果样品处理量过多，Buffer viRL 对于样品裂解不完全，导致纯化获得的 RNA 纯度不高；同时可能会超过 RNA-Only Column 的最大承载量而浪费珍贵样本。

### 材料取用说明

血浆、血清、无细胞体液或细胞培养上清液：单次处理，处理量请勿超过 200µl。

## 预防 RNase 污染

- ◆ 人体接触是重要的 RNase 污染源，且部分试剂中可能带有刺激性气味，请在操作过程中经常更换手套，并佩戴一次性口罩。
- ◆ 请使用无 RNase 的枪头和其他塑料制品。
- ◆ RNA 在 Buffer viRL 中时不会被 RNase 降解，但提取后继续处理过程中应使用不含 RNase 的塑料和玻璃器皿。玻璃器皿可在 150°C 烘烤 4 小时，塑料制品可在 0.5M NaOH 中浸泡 10 分钟，然后用水彻底清洗，高压灭菌，即可去除 RNase。
- ◆ 配制溶液应使用无 RNase 的水(将水加入处理过不含 RNase 的玻璃瓶中，加入 DEPC 至终浓度 0.01%(v/v)，混匀后放置过夜，高压灭菌)。

## 基因组 DNA 污染及清除

病毒 RNA 提取试剂盒主要是为了从血浆、血清、无细胞体液和细胞培养上清液等样品中获得病毒 RNA，纯化获得的 RNA 通常无需使用 DNase 处理即可有用于下游操作。由于样品中可能存在痕量 DNA 对于某些 RNA 分析实验十分敏感，比如：荧光定量 RT-PCR 分析低丰度基因。这时可以选用合适的 DNase 进一步清除 DNA 污染。

## 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 **500µl** Buffer viRL 和 **2µl** Linear Acrylamide 加入一个干净的 2ml 离心管中, 来回颠倒混匀。  
注意: 为避免溶液出现起泡现象, 请勿使用涡旋振荡。随着样品个数的增加, 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 200µl, 可等比例增加工作液的用量。
2. 向上述离心管中加入 **200µl** 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 15sec 混匀。为了保证裂解充分, 样品和 Linear Acrylamide 工作液需要彻底混匀。
3. 在室温(15-25°C)孵育 10min。
4. 简短离心以收集附着在管壁及管盖的液体。
5. 加入 **350µl** 异丙醇, 盖上管盖并涡旋振荡 15sec。
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 **750µl** 混合液转移至 RNA-Only Column 中(RNA-Only Column 放入收集管中), 盖上管盖, **8000rpm (~6000 xg)**离心 1min, 弃掉收集管中的废液。  
注意: 如果混合液中出现絮状沉淀, 请将沉淀一并转移至 RNA-Only Column 中。如果混合液大于 750µl, 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, **8000rpm (~6000 xg)**离心 1min, 弃掉收集管中的废液。
9. 向 RNA-Only Column 中加入 **500µl** Buffer viRW1, **8000rpm (~6000 xg)**离心 1min, 弃掉收集管中的废液。
10. 向 RNA-Only Column 中加入 **700µl** Buffer viRW2(使用前请确认已按照说明加入无水乙醇), **8000rpm (~6000 xg)**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 xg)**空管离心 2min, 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 $\mu$ l** 已于 65°C 预热的 RNase-Free ddH<sub>2</sub>O (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 2min。12,000rpm (~13,400  $\times$ g) 离心 1min 收集 RNA 溶液。

注意：RNase-Free ddH<sub>2</sub>O 加入体积不应低于 30 $\mu$ l，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。

## RNA 浓度及纯度检测

得到的 RNA 的质量与操作过程中的多种因素有关。RNA 可用琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计检测浓度与纯度。由于本试剂盒对 RNA 二级结构保护较好，建议凝胶电泳之前，先将得到的 RNA 溶液置于 72°C 变性处理 5-10min。

用紫外分光光度计测定 RNA 浓度，OD<sub>260</sub> 值为 1 相当于大约 40µg/ml 的 RNA。

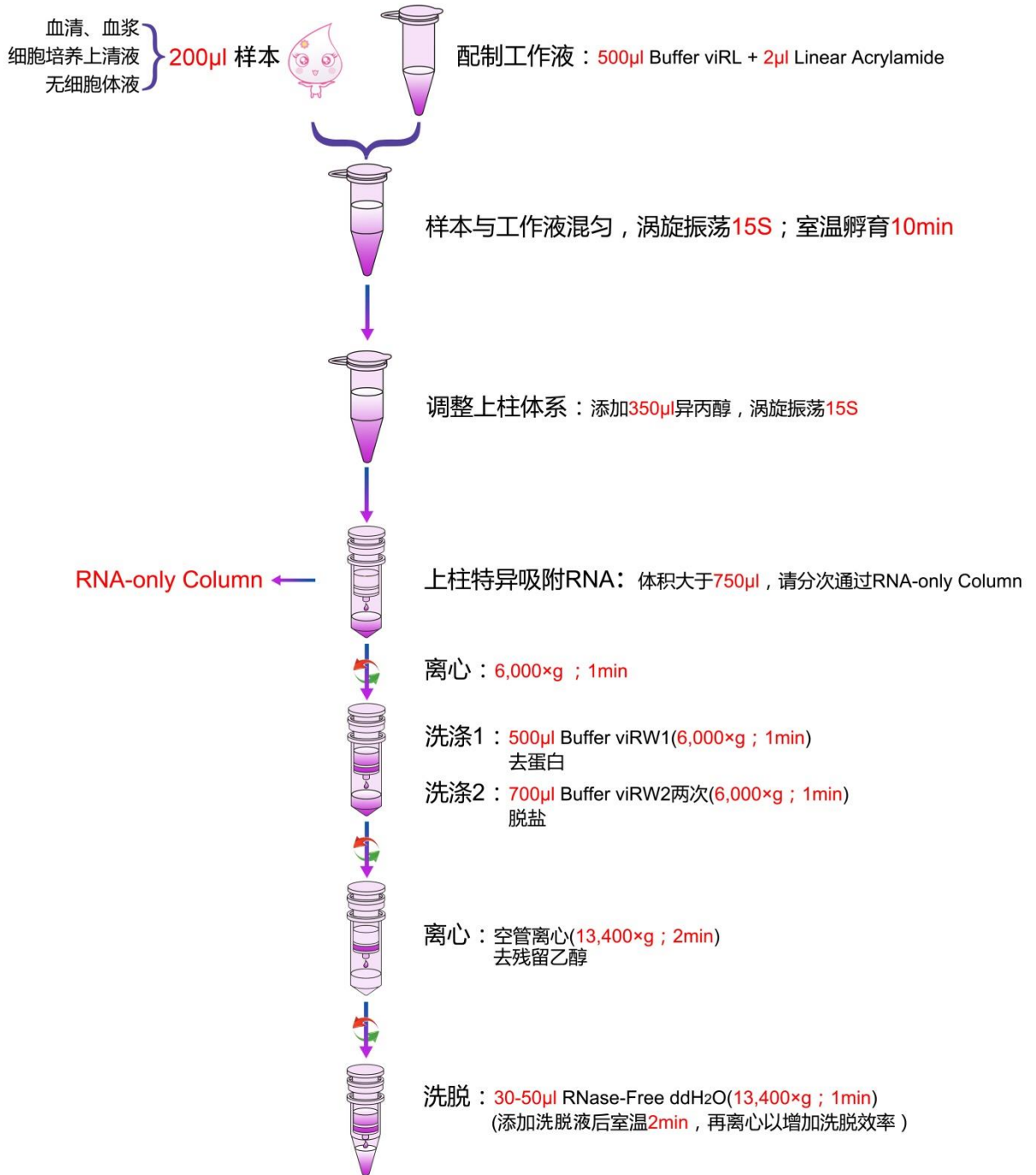
RNA 的 OD<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub> 比值通常用作核酸纯度的衡量指标，一般情况下，纯 RNA 的 OD<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub> 比值在 1.8-2.1。OD<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub> 比值会受测定所用溶液的 pH 值的影响，例如，纯化 RNA 在 pH 7.5 的 10mM Tris-HCl 缓冲液中 OD<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub> 读数在 1.9-2.1 之间，而在中性的水溶液中比值会变低，可能只有 1.8-2.0，这并不意味着 RNA 的质量变差。

## DNA 污染及检测

由于样品中可能存在 DNA 污染，病毒 RNA 提取试剂盒不能除去 RNA 中的 DNA，并且它的存在量与样品的用量及其本身性质有关。

对于纯化得到的 RNA 中的微量 DNA 的检测，可以通过不经逆转录进行实时荧光定量 PCR 检测。我们建议，可以设计引物，其退火匹配区域位于基因组 DNA 的内含子中。如果 RNA 中不含有任何基因组 DNA，基于这对引物的 PCR 是不会扩增出相应的 PCR 产物。

## 快速操作示意图



## 问题分析指南

以下针对病毒 RNA 提取中可能遇到的问题进行分析，希望能对您的实验有所帮助。另外，对于在操作说明和问题分析以外的其他实验或技术上的问题，我们设有专门的技术支持帮助您。如有任何需要可联系我们：028-83361257 或 E-mail:

Tech@foregene.com。

### 提取不到 RNA 或者 RNA 产量低

通常会有多种因素影响回收效率，比如：样本 RNA 含量、操作方法、洗脱体积等。

常见原因分析：

1. 操作过程中进行了冰浴或低温(4°C)离心。  
建议：全程常温(15-25°C)操作，切勿冰浴和低温离心。
2. 样品保存不当或样本保存时间过久。  
建议：样本保存于-80°C或冻存于液氮中，并避免反复冻融使用；尽量采用新鲜采集样品进行 RNA 提取操作。
3. 样品裂解不充分。  
建议：请保证样品和 Linear Acrylamide 工作液彻底混匀，并且在室温(15-25°C)孵育 10min。
4. 洗脱液添加不正确。  
建议：确认 RNase-Free ddH<sub>2</sub>O 滴加到了纯化柱膜中间位置。
5. Buffer viRW2 中没有添加正确体积的无水乙醇。  
建议：请按照说明书，在试剂盒使用前，Buffer viRW2 中添加正确体积的无水乙醇并混匀。
6. 样品用量不合适。  
建议：每 500µl Buffer viRL 处理样品量 200µl，样品处理量过多会导致 RNA 提取量降低。
7. 洗脱体积不合适或洗脱不彻底。  
建议：纯化柱的洗脱液体积为 30-50µl；若洗脱效果并不理想，建议在加入预热的 RNase-Free ddH<sub>2</sub>O 后，延长室温放置的时间，例如放置 5-10min。
8. 纯化柱在 Buffer viRW2 洗涤之后有乙醇残留。  
建议：如果在 Buffer viRW2 洗涤，空管离心 2min 后还有乙醇残留，可以在空管离心后将纯化柱置于室温 5min，以充分除去残留乙醇。

## 纯化获得的 RNA 有降解

纯化得到的 RNA 的质量和样品的保存、RNase 污染、操作等因素有关。

常见原因分析：

1. 采集样品没有及时保存。

建议：样品在采集后若不及时使用，请立即低温保存于-80°C或者液氮中。提取 RNA 请尽量使用新近采集的样品。

2. 采集样品反复冻融。

建议：采集样品保存过程中要避免冻融(不超过一次)，否则会导致核酸得率降低。

3. 操作间有 RNase 引入或没有佩戴一次性手套、口罩等。

建议：RNA 提取实验最好在单独的 RNA 操作间进行，并在实验前清理好实验桌，实验时佩戴一次性手套、口罩，最大程度上避免 RNase 引入导致的 RNA 降解。

4. 试剂在使用过程中被 RNase 污染。

建议：更换新的 Viral RNA Isolation Kit 进行相关实验。

5. RNA 操作时所用的离心管、枪头等有 RNase 污染。

建议：确认 RNA 提取时所用到的离心管、枪头、移液器等都是 RNase-Free。

## 纯化获得的 RNA 影响下游实验

经纯化柱纯化的 RNA，如果盐离子、蛋白质含量过多会影响下游实验，比如：逆转录、Northern Blot 等。

1. 洗脱后的 RNA 有盐离子残留。

建议：确认 Buffer viRW2 中添加了正确体积的无水乙醇，并按操作说明的离心转速进行 2 次纯化柱洗涤；如果还有盐离子残留，可在纯化柱加入 Buffer viRW2 后，室温放置 5min，再进行离心操作，以最大程度上去除盐离子污染。

2. 洗脱后的 RNA 有乙醇残留。

建议：确认 Buffer viRW2 洗涤后，按操作说明的离心转速进行空管离心操作；如果还有乙醇残留，可以在空管离心后再室温放置 5min，以最大程度上去除乙醇残留。



中国 ● 福际      World's Foregene

成都福际生物技术有限公司

电话: 028-83360257, 028-83361257

E-mail: [info@foregene.com](mailto:info@foregene.com)

[Http://www.foregene.com](http://www.foregene.com)

