

## RaPure Viral RNA/DNA Kit

### 病毒总核酸快速抽提试剂盒

本产品适合于从抗凝血液、血清、血浆、牛奶、体液、培养液、组织匀浆液、拭子等样品中提取病毒 RNA 和 DNA。试剂盒基于硅胶柱纯化技术，提取过程中无需使用有毒的酚氯仿抽提，也无需进行耗时的醇类沉淀。该产品已经成功地提取了对虾乙肝 A/C、丙肝 RNA、SARS 以及 HIV 等。获得的 RNA 可直接用于 RT-PCR、Northern 杂交、以及各种病毒检测等。获得的 DNA 可直接用于 PCR、荧光定量 PCR、病毒检测等。

### 产品组份

产品编号	R4410-01	R4410-02	R4410-03
纯化次数	10 次	50 次	250 次
HiPure RNA Columns A	10	50	250
2ml Centrifuge Tubes	10	50	250
1.5ml Centrifuge Tubes	10	50	250
Proteinase K	6 mg	24 mg	120 mg
Protease Dissolve Buffer	1.8 ml	1.8 ml	15 ml
Buffer GRP	10 ml	30 ml	150 ml
Buffer GW1 *	6.6 ml	13 ml	66 ml
Buffer RW2 *	5 ml	20 ml	50 ml
Nuclease Free Water	1.8 ml	10 ml	30 ml

### 保存条件

本产品室温(15~25℃)可保存 18 个月。低温下, Buffer GRP 可能会有沉淀形成, 需 55℃ 水浴让沉淀完全溶解。Proteinase K 干粉室温运输和保存, 长期保存建议保存于-20~8℃, 溶解后的 Proteinase K 需保存于-20~8℃。

## 准备事项

- 无水乙醇(96-100%)
- Buffer GW1 使用前必须用无水乙醇稀释，并于室温保存。
- Buffer RW2 使用前必须用无水乙醇稀释，并于室温保存。
- 溶解 Proteinase K (20mg/ml): 加入适量的 Protease Dissolve Buffer 溶解 Proteinase K 至终浓度为 20mg/ml，轻轻颠倒让蛋白酶 K 充分溶解。Proteinase K 干粉可在室温下保存一年，但溶解的 Proteinase K 须分装保存于-20~-8℃。
- 小型离心机(12,000 × g)
- 点动涡旋仪
- (组织样品)匀浆器
- (可选)Buffer PBS

## 实验步骤

1. (可选)转移 20 $\mu$ l Proteinase K 至 1.5ml 离心管中。
2. **转移 100~250 $\mu$ l 液体样品**（如血清、血浆、细胞培养液、组织匀浆液上清等）**至装有 Proteinase K 的离心管中**，振荡混匀 5 秒。
  - **咽拭子、口腔拭子或肛拭子**：取拭子样品放置于 1.5ml 离心管，加入适量的 0.3~0.6ml Buffer PBS，充分涡旋混匀后，取 250 $\mu$ l 重悬液进行操作。
  - **动植物组织等固体样品**：取 50~100mg 样品，加入 1ml Buffer PBS，用合适的匀浆器匀浆打散样品后，13,000  $\times$  g 离心 3 分钟，取 100~250 $\mu$ l 上清进行操作。
  - **哺乳动物抗凝血液**：动物血液含有大量的蛋白质和核酸，建议样品用量为 100~200 $\mu$ l，过量的样品可能会引起柱子的堵塞。禽类血液核酸含量非常高，只能使用血清或血浆样品。
3. **加入 500 $\mu$ l Buffer GRP 至样品中**，涡旋混匀 15 秒，室温静置 10 分钟。
4. **把 HiPure RNA Column A 装在 2ml 收集管中。转移混合液至柱子中。** 12,000  $\times$  g 离心 30~60 秒。
5. **倒弃滤液把柱子装回收集管中。加入 500 $\mu$ l Buffer GW1(用乙醇稀释)至柱子中。** 12,000  $\times$  g 离心 30~60 秒。
6. **倒弃滤液把柱子装回收集管中。加入 650 $\mu$ l Buffer RW2(用乙醇稀释)至柱子中。** 12,000  $\times$  g 离心 30~60 秒。
7. **倒弃滤液把柱子套回收集管。** 12,000  $\times$  g 离心 2 分钟以甩干柱子。
8. **将柱子转移至新的 1.5ml 离心管。加入 30~50 $\mu$ l Nuclease Free Water 至柱子的膜中央。静置 2 分钟。** 12,000  $\times$  g 离心 1 分钟。
9. 弃去柱子，把 DNA/RNA 保存于-80 $^{\circ}$ C。

## 常见问题

### 1. 柱子堵塞

- **样品用量太多:** 处理动物抗凝血液时, 样品量控制在 100~200 $\mu$ l。尽量使用无细胞的样品, 如血浆、血清、组织匀浆液的上清等。
- **延长消化时间:** 加入 Buffer GRP 后, 延长室温静置至 15~30 分钟。
- **Proteinase K 活性下降:** 重新制备 Proteinase K。使用后 Proteinase K 必须保存于 -20 $^{\circ}$ C。Proteinase K 与 Buffer GRP 不能预先混合。

### 2. 下游应用结果不理想

- **样品被反复解冻:** 避免反复冻融样品。推荐使用新鲜样品或只解冻过一次的样品。
- **Nuclease Free Water 被污染:** 更换新的 Nuclease Free Water 或 DEPC 处理水。
- **试剂准备有误:** 按瓶子标签所示, 加入合适体积的无水乙醇至 Buffer GW1 和 Buffer RW2 中。
- **Proteinase K 活性下降:** 重新制备 Proteinase K。使用后 Proteinase K 必须立即保存于 -20 $^{\circ}$ C。分装保存 Proteinase K, 避免反复冻融。
- **乙醇残留:** 柱子在洗脱前, 需要空甩去除乙醇。对于敏感的应用, 柱子在洗脱后, 打开柱子的盖子, 放置 10~15 分钟让乙醇彻底挥发。
- **盐分残留:** 重复用 650 $\mu$ l Buffer RW2 洗涤柱子一次。
- **洗脱效率:** 处理富含 DNA 的样品时, 把 Nuclease Free Water 预热至 55 $^{\circ}$ C 后再进行洗脱, 有利于提高 DNA 得率。