病毒（噬菌体）RNA 提取试剂盒（柱式法）使用说明书

【预期用途】

病毒（噬菌体）RNA 提取试剂盒（柱式法）用于从病毒或噬菌体培养液中分离纯化病毒或噬菌体 RNA。

【检验原理】

裂解吸附液裂解病毒（噬菌体）释放核酸，核酸保护剂保护 RNA 不被核酸酶水解。裂解吸附液促使核酸与蛋白质分离的同时，促使吸附柱内的硅胶膜高效吸附释放的核酸；经 DNA 清除工作液清除 DNA 后，洗涤吸附柱，去除蛋白、盐等杂质。在洗脱液作用下，硅胶膜释放吸附的 RNA。

【试剂盒组成、贮藏及有效期】

产品编号	组成成分	50T	100T	200T
MDT-VPR01C	裂解吸附液 R	15mL×1 瓶	30mL×1 瓶	60mL×1 瓶
	核酸保护剂	500μL×1 支	1mL×1 支	2mL×1 支
	DNA 清除剂缓冲液	2.5mL×1 瓶	5mL×1 瓶	10mL×1 瓶
	DNase I 储存液	500μL×1 支	1mL×1 支	2mL×1 支
	RAW1 缓冲液	12mL×1 瓶	24mL×1 瓶	48mL×1 瓶
	吸附柱（含收集管）	50 支	100 支	200 支
	洗脱液 A	3mL×1 瓶	6mL×1 瓶	12mL×1 瓶
	使用说明书	1 份	1 份	1 份

DNase I 储存液: 2-8℃运输，-20℃保存；
核酸保护剂：常温（10-30℃）运输，2-8℃保存；
其他试剂：常温（10-30℃）运输保存。有效期 1 年。

【注意事项】<u>使用前务必认真阅读以下注意事项</u>

1. 提前配制 RAW1，RAW1 中乙醇含量低于 60%会影响提取效果。
2. 提前配制 80%乙醇水溶液，乙醇水溶液中乙醇含量低于 80%会影响提取效果。
3. 洗脱液的使用量太少会影响提取效果。
4. 当储存温度长时间低于 10℃时，裂解吸附液 R 易出现结晶，使用前需温浴使结晶完全溶解。
5. 提取时室温太低，影响提取效率。
6. 本试剂盒在有效期内不同批号试剂可以互换。
7. 虽然本产品无氯仿、苯等 OSHA 规定的危险物品，但操作时最好做好必要的防护措施，戴口罩手套，并且在通风的生物安全柜中进行。
8. 按当地法律法规处理生物样本和废弃物。

【样本要求】

病毒或噬菌体培养液。

【自备器械和试剂】

小型高速离心机（最大离心力≥12,000×g）、振荡仪、金属浴、1.5mL 离心管、生理盐水和无水乙醇等。

- **RAW1 配制：**RAW1 缓冲液使用前按照瓶身标签说明加入相应量的无水乙醇，使乙醇含量为 60%，混匀后密封常温保存。
- **80%乙醇水溶液配制：**1 份水加入 4 份无水乙醇，配制成 80%乙醇水溶液，混匀后密封常温保存。
- **DNA 清除工作液的配制：**根据样本数，5 份 DNA 清除剂缓冲液中加入 1 份 DNase I 储存液（**比如 50μL 的 DNA 清除剂缓冲液中加入 10μL 的 DNase I 储存液**），混匀，-20℃可稳定 1 周。
- 每次使用前检查**裂解吸附液 R** 是否沉淀或结晶，如有沉淀或结晶，请于 50°C 以上孵育至液体澄清。

【操作步骤】

1. 在 1.5mL 离心管中加入 200μL 病毒或噬菌体培养液、10μL 核酸保护剂和 300μL 裂解吸附液 R。闭盖，室温（25℃）3,000rpm 振荡 10 分钟。

➢振荡时温度低于 20℃影响提取效率；

➢3000rpm 振荡能明显提高 RNA 的提取效率。1500rpm 振荡 10 分钟操作方式的 RNA 提取效率是 3000rpm 振荡 10 分钟操作方式的 80%左右；

➢核酸保护剂必须先于裂解吸附液加入病毒或噬菌体培养液中；

➢当储存温度长时间低于 10℃时，裂解吸附液 R 易出现结晶，使用前需温浴使结晶完全溶解。

2. 取出离心管，瞬时离心。将吸附柱放入收集管中，转移所有液体至吸附柱，闭盖。

---

3. 12,000×g 离心 1 分钟。取出吸附柱，弃去收集管中的废液，将吸附柱重新放入收集管中。

---

4. 开盖，在吸附柱中加入 60μL DNA 清除工作液，闭盖。金属浴中 37℃孵育 15 分钟。

➢本试剂盒提取的 RNA 含微量 DNA，DNA 的残留可能会影响某些下游实验。如需获得无 DNA 残留的 RNA 提取物可选择此步；如果对 DNA 残留无特殊要求可直接进入“步骤 5”。

5. 开盖，在吸附柱中加入 600μL RAW1，闭盖 12,000×g 离心 20 秒。取出吸附柱，弃去收集管中的废液，将吸附柱重新放入收集管中。

➢加入 RAW1 时，避免 RAW1 接触吸附柱的管口。

6. 开盖，在吸附柱中加入 600μL 80%乙醇水溶液，闭盖 12,000×g 离心 20 秒。取出吸附柱，弃去收集管中的废液，将吸附柱重新放入收集管中。

7. 开盖，在吸附柱中加入 600μL 80%乙醇水溶液，闭盖 12,000×g 离心 20 秒。取出吸附柱，丢弃收集管。将吸附柱放入新的 1.5mL 离心管中。

8. 闭盖 12,000×g 离心 3 分钟。取出吸附柱，丢弃离心管。

9. 将吸附柱转入新的 1.5mL 离心管中，加入 50μL 洗脱液 A 至吸附柱中心。闭盖室温静置 1 分钟，12,000×g 离心 1 分钟，收集洗脱液，备用。

➢洗脱液 A 的使用量可以根据需要调整。

【病毒（噬菌体）RNA 提取（柱式法）常见问题】

常见问题	原因	解决方案
未提取到 RNA 或产量低	1. 样本未及时保存或保存不当	样本保存温度不当或保存时间过长，内源性 RNase 导致 RNA 降解。采用新鲜样本。
	2. 使用裂解吸附液 R 裂解病毒或噬菌体培养液时振荡速度不够	增加裂解时的振荡速度。
	3. RAW1 中乙醇添加比例不当	使用无水乙醇配制 RAW1，使乙醇含量达 60%。
	4. 80%乙醇水溶液配制不当	使用无水乙醇配制 80%乙醇水溶液，乙醇含量达 80%。
	5.洗脱不当	洗脱液加至膜中央，适当减少洗脱体积，可 65°C 预热洗脱液或延长室温静置时间。
RNA 降解	1.样本未及时保存或保存不当	采用新鲜、液氮保存或保存液保存的样本。
	2.样本反复冻融	避免样本反复冻融，分装保存。
	3.电泳污染和环境污染	电泳前确保电泳槽、制胶板和电泳液无 RNase 污染，如有污染 ①使用洗洁精充分清洗电泳槽和制胶板，再用 3%双氧水浸泡 20 分钟，然后用 RNase-free ddH_2O 进行冲洗 ②或使用本公司的核酸酶清除剂（MDT-NSS）清除 RNase；使用 RNase-free ddH_2O 配制电泳缓冲液。
纯度低	1.盐离子残留	加入 RAW1 后闭盖静置 30 秒; 避免 RAW1 接触吸附柱上下口。
	2.乙醇残留	最后一次洗涤后，吸附柱闭盖 12,000×g 再离心 3 分钟。
	3.DNA 残留	增加 DNase I 工作液的使用量; 延长 DNaseI 的孵育时间。

【说明书编制日期】2024 年 01 月 25 日

【基本信息】

企业名称：无锡迈德泰克生物医药有限公司
公司地址：江苏省无锡市惠山经济开发区惠山大道 1699 号生命科技产业园 C5 楼 C50206 室
网　　址：www.wuxi-medtech.com
联系电话：173 1562 0564（微信同号）；　138 6175 7779（微信同号）