

R6874 Viral RNA Kit

简易中文步骤

√实验前请按说明书正确稀释以下试剂：

- 使用【无水乙醇】对 RNA Wash Buffer II 进行稀释，稀释后室温保存。

货号	加入量
R6874-00	20mL
R6874-01	48mL
R6874-02	200mL

- 将【DEPC Water】加入到 Carrier RNA 中，稀释后保存于-20℃，溶解后请勿冻融超过 3 次。

货号	加入量
R6874-00	50μl
R6874-01	310μl
R6874-02	1.2mL

- 使用【无水乙醇】对 VHB Buffer 进行稀释，稀释后室温保存。

货号	加入量
R6874-00	2.6mL
R6874-01	19.1mL
R6874-02	84mL

实验步骤：

离心方案：

1. 按照实验实际使用量配置 QVL lysis buffer 与 Carrier RNA 预混液

注意：预混液可在 2-8℃稳定保存不超过 48 小时，当低温保存时，预混液可能析出沉淀物。请在使用前检查，如发现析出沉淀物，请在 80℃水浴下溶解方可使用。注意水浴加热时间不得超过 5min。

反应次数	QVL Lysis Buffer 体积 (mL)	Carrier RNA 体积 (μl)
1	0.56	5.6
2	1.12	11.2
3	1.68	16.8
4	2.24	22.4
5	2.80	28.0
6	3.36	33.6

7	3.92	39.2
8	4.48	44.8
9	5.04	50.4
10	5.60	56.0

2. 加入 500µl QVL Lysis Buffer 到 1.5mL 离心管中（离心管试剂盒未提供）；
3. 加入 150µl 血浆、无细胞体液、细胞上清液或尿液至管中，涡旋混匀 30s；
4. 室温放置 5-10min，短暂离心收集管盖上液体；
5. 加入 350µl 无水乙醇至管中，涡旋 30s 混匀，短暂离心收集管盖上液体；
6. 将 HiBind® RNA Mini Column 套入到 2mL 收集管中（收集管由试剂盒提供），转移 750µl 混合液至 HiBind® RNA Mini Column 中，最大速度 > 13,000xg 离心 15s，弃除废液；
7. 重复步骤 6，直至所有混合液通过，即把未转移完的混合液再次加到结合柱中，离心，弃除废液；
8. 将 HiBind® RNA Mini Column 套回到 2mL 收集管中（收集管由试剂盒提供），加入 500µl 已稀释的 VHB Buffer，最大速度 > 13,000xg 离心 15s，弃除废液；
Note: VHB Buffer 在使用前必须按照说明书加入无水乙醇稀释。
9. 将 HiBind® RNA Mini Column 套入到新的 2mL 收集管中（收集管由试剂盒提供），加入 500µl 已稀释的 RNA Wash Buffer II，最大速度 > 13,000xg 离心 15s，弃除废液；
Note: RNA Wash Buffer II 在使用前必须按照说明书加入无水乙醇稀释。
10. 重复步骤 9，即进行第二次 RNA Wash Buffer II 洗涤；
11. 将 HiBind® RNA Mini Column 套回到 2mL 收集管中，最大速度离心 2min 至柱基质完全干燥；
Note: 该步骤对于除去残留的乙醇至关重要，否则可能会影响下游实验。
12. 将 HiBind® RNA Mini Column 套入到新的 1.5mL 离心管中（离心管试剂盒未提供），加入 20-50µl DEPC Water，最大速度离心 1min 洗脱 RNA；
13. 获得 RNA 产物至于-70°C保存。

真空抽滤方案:

1. 按照实验实际使用量配置 QVL lysis buffer 与 Carrier RNA 预混液
注意：预混液可在 2-8°C 稳定保存不超过 48 小时，当低温保存时，预混液可能析出沉淀物。请在使用前检查，如发现析出沉淀物，请在 80°C 水浴下溶解方可使用。注意水浴加热时间不得超过 5min。

反应次数	QVL Lysis Buffer 体积 (mL)	Carrier RNA 体积 (μl)
1	0.56	5.6
2	1.12	11.2
3	1.68	16.8
4	2.24	22.4
5	2.80	28.0
6	3.36	33.6
7	3.92	39.2
8	4.48	44.8
9	5.04	50.4
10	5.60	56.0

- 加入 500μl QVL Lysis Buffer 到 1.5mL 离心管中 (离心管试剂盒未提供) ;
- 加入 150μl 血浆、无细胞体液、细胞上清液或尿液至管中, 涡旋混匀 30s;
- 室温放置 5-10min, 短暂离心收集管盖上液体;
- 加入 350μl 无水乙醇至管中, 涡旋 30s 混匀, 短暂离心收集管盖上液体;
- 按照说明书将 HiBind® RNA Mini Column 与真空抽滤装置连接, 转移 750μl 裂解混合液至 HiBind® RNA Mini Column 中, 打开真空泵, 使所有混合液通过柱子, 关闭真空泵;

Note: 如果溶液无法通过柱子, 需将柱子转移套入至 2mL 收集管中, 最大速度离心直至所有溶液转移过柱, 即按照离心方案步骤 6 进行;

- 重复步骤 6, 直至所有混合液转移过柱;
- 加入 500μl VHB Buffer, 打开真空泵, 使所有溶液通过柱子, 关闭真空泵;

Note: VHB Buffer 在使用前必须按照说明书加入无水乙醇稀释。

- 加入 500μl RNA Wash Buffer II, 打开真空泵, 使所有溶液通过柱子, 关闭真空泵;

Note: RNA Wash Buffer II 在使用前必须按照说明书加入无水乙醇稀释。

- 重复步骤 9, 再次加入 RNA Wash Buffer II 进行洗涤;
- 将 HiBind® RNA Mini Column 从真空抽滤装置取下, 套入到 2mL 收集管中, 最大速度离心 2min 至柱基质完全干燥;

Note: 该步骤对于除去残留的乙醇至关重要, 否则可能会影响下游实验。

- 将 HiBind® RNA Mini Column 套入到新的 1.5mL 离心管中 (离心管试剂盒未提供), 加入 20-50μl DEPC Water, 最大速度离心 1min 洗脱 RNA;
- 获得 RNA 产物至于 -70°C 保存。

中文翻译仅供辅助阅读, 详情请以英文说明书为准