

天  
净  
沙  
系  
列

CAT#:71001-50  
常温运输和保存

**TIANDZ**

# 柱式病毒 RNA<sub>OUT</sub>

Column Viral RNA<sub>OUT</sub>

使用手册 V2.0

北京天恩泽基因科技有限公司

北京市海淀区上地信息路 26 号北京市留学人员海淀创业园中关村创业大厦 506  
网址: [www.tiandz.com](http://www.tiandz.com); 电话: 400-6765278; 电邮: [order@tiandz.com](mailto:order@tiandz.com)

<p><b>产品及特点</b></p>	<p>本产品是在天泽基因一管式病毒 RNA<sub>OUT</sub> 的基础上开发的、专门用于从血清(血浆)等液体样品中提取微量病毒 RNA 的产品，它具有下列特点：</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 操作简单，整个过程只需要 20 分钟左右，不需要额外在洗柱液中补加乙醇。</li> <li>2. 灵敏度高，通过 RT-PCR 检测到的最终灵敏度可以达到 50 拷贝/mL。</li> <li>3. 安全无毒，不需要使用苯酚和氯仿等有机溶液。</li> <li>4. 如果加上病毒离心富集步骤，最多可以处理 1.5 mL 液体病毒样品。</li> <li>5. 与 RT-PCR 和荧光 RT-PCR 兼容。</li> <li>6. 价廉物美，性价比远低于国外同类产品。</li> <li>7. 适用于各种材料，包括血清、血浆、脑脊液、尿液、粪便、培养细胞上清液等无细胞材料。</li> </ol>																								
<p><b>规格及成分</b></p>	<table border="1" data-bbox="596 831 1283 1279"> <thead> <tr> <th>成份</th> <th>编号</th> <th>大纸盒包装</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>RNA 病毒裂解液</td> <td>3073a</td> <td>30 mL</td> </tr> <tr> <td>上柱结合液</td> <td>190602</td> <td>40 mL</td> </tr> <tr> <td>离心吸附柱</td> <td>60911</td> <td>50 套</td> </tr> <tr> <td>通用洗柱液</td> <td>60408</td> <td>50 mL</td> </tr> <tr> <td>RNA 洗脱液</td> <td>71207</td> <td>10 mL</td> </tr> <tr> <td>使用手册</td> <td>71001sc</td> <td>1 份</td> </tr> </tbody> </table>				成份	编号	大纸盒包装	RNA 病毒裂解液	3073a	30 mL	上柱结合液	190602	40 mL	离心吸附柱	60911	50 套	通用洗柱液	60408	50 mL	RNA 洗脱液	71207	10 mL	使用手册	71001sc	1 份
成份	编号	大纸盒包装																							
RNA 病毒裂解液	3073a	30 mL																							
上柱结合液	190602	40 mL																							
离心吸附柱	60911	50 套																							
通用洗柱液	60408	50 mL																							
RNA 洗脱液	71207	10 mL																							
使用手册	71001sc	1 份																							
<p><b>运输及保存</b></p>	<p>常温运输和保存，RNA 病毒裂解液长期（1 周）放置需放 4℃，有效期一年。</p>																								
<p><b>自备试剂</b></p>	<p>无</p>																								
<p><b>使用方法</b></p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 如果有 N 个样品，标记 N+2 个 1.5-2 mL 螺旋盖塑料离心管(如 Sarstedt CAT#:782.694.006)，多出的一个为阳性对照，一个为阴性对照。为避免污染，建议不要使用压盖式塑料离心管。在每个管上做个标记，以在后续操作时区别向心面和离心面。然后各加入 0.2 mL 液体样品（血清、血浆、尿液、脑脊液、唾液、眼泪等等）。 <ol style="list-style-type: none"> <li>1.1、 如果是口腔拭子、咽喉拭子等各种拭子样品，则将拭子放入 0.2mL 自备生理盐水中挤压出液体，然后取 0.2mL 进行提取。</li> <li>1.2、 如果是粪便等半固定样品，则取约 0.3mL 的样品，加入 0.3 自备生理盐水，震荡重悬，离心取 0.2mL 上清进行提取。</li> <li>1.3、 如果血液，细胞培养液等含细胞的液体，可以离心用上清，也可以直接取用，但后者提取的 RNA 中有细胞的基因组 DNA 污</li> </ol> </li> </ol>																								

染。血浆的抗凝剂必须是 EDTA 或 ACD，不能是肝素。使用 ACD 时由于所加入 ACD 会增加体积，样品会被稀释，得到的病毒滴度会比使用 EDTA 低 15%左右。血浆最好按 0.6mL/管的量分装保存，以避免反复冻融。

1.4、 如果样品是实体组织或培养细胞，则需要自备生理盐水中匀浆后离心，用 0.2mL 上清液（含病毒）进行提取，但此种情况下最后得到的 RNA 不可避免的会含有基因组 DNA 污染。

1.5、 如果液体样品中的病毒需要富集，可以使用 1.5 mL 上述方法得到的液体在 4℃ 24,000 g 冷冻离心 60 分钟，移弃 1.3 mL、用剩下的 0.2mL 继续操作。

2. 加入 0.6 mL RNA 病毒裂解液，振荡 30 秒混匀后室温放置 10 分钟。  
注意：RNA 病毒裂解液在 4℃ 放置后可能会产生沉淀，使用前必须放在 65℃ 水浴使沉淀彻底溶解并充分摇匀后再取用。

3. 加入 0.8mL 上柱结合液到离心管中，颠倒混匀后转移一半的混合液（0.8 mL）到离心吸附柱中，室温放置 2 分钟。

4. 12,000 rpm 室温离心 1 分钟，弃收集管中的穿透液，把离心吸附柱放回到收集管中。

5. 将剩余的另外一半裂解液（0.8mL）转移到离心吸附柱中，室温放置 2 分钟。

6. 12,000 rpm 室温离心 1 分钟，弃收集管中的穿透液，把离心吸附柱放回到收集管中。

7. 加入 0.7 mL 通用洗柱液到离心吸附柱中，12,000 rpm 室温离心 1 分钟，弃收集管中的穿透液，把离心吸附柱放回到收集管中。

8. 加入 0.3 mL 通用洗柱液到离心吸附柱中，12,000 rpm 室温离心 1 分钟，弃收集管中的穿透液，把离心吸附柱放回到收集管中。此为第二次洗涤，可以跳过。

9. 12000 g 室温离心半分钟。

10. 在离心吸附柱的滤膜的中部加入 30-100  $\mu$ L RNA 洗脱液，然后将离心吸附柱套入一新的 1.5 mL 离心管中，室温放置 2 分钟。

11. 12000 g 室温离心 1 分钟，离心管中收集的样品即为 RNA。

12. RNA 样品可以直接用于 RT-PCR 或逆转录反应，也可放 -80℃ 长期保存。

注：病毒提取的核酸量远不足以电泳检测，提取后可通过 RT-PCR 检测，最终灵敏度可以达到 50 拷贝/mL。

## 相关资料

### 常见人类疾病相关 RNA 病毒

病毒	疾病名称	类型	长度(Kb)
Measles virus	measles	ssRNA	4.5~85
Hepatitis A Virus	hepatitis type A	ssRNA	7.5
Poliomyelitis virus	polio	ssRNA	7.8
Rubella virus	German measles	ssRNA	7.9
Hepatitis C Virus	hepatitis type C	ssRNA	9.3~9.4
Human immunodeficiency virus	AIDS	ssRNA	9.7
Dengue Virus	dengue	ssRNA	11
Yellow fever virus	yellow fever .	ssRNA	11
Rabies virus	rabies	ssRNA	11.9
Influenza A virus	influenza	ssRNA	13.5
Mumps virus	mumps	ssRNA	15.4
Ebola virus	virus hemorrhagic fever	ssRNA	19

## 疑难解答

Q：提取液体样品/病毒核酸(RNA 或 DNA)为何很难？

A：原因一是量少。病毒颗粒中的 RNA 或 DNA 是作为遗传物质保存，每个病毒最多只携带几个拷贝(而一个细胞中有上万种 RNA 分子，每种 RNA 有很多拷贝)，同时其长度也十分有限(一般不到细胞基因组的万分之一)，样品中病毒数往往又不是很多，使得样品中病毒核酸的绝对量往往比一个细胞中核酸的绝对量还少，所以操作中十分容易丢失。另外，由于得到的核酸绝对量很少，不能使用电泳和测 OD 检测，只能通过 PCR 或 RT-PCR 检测，而 PCR 或 RT-PCR 的条件又需要优化，所以要确定提取是否成功十分不容易。

## 关联产品

柱式病毒 DNAOUT (CAT#:70701-50)