天净沙系列

CAT#:220154-4

常温运输，2-8℃保存

天净沙

ssRNA-dsRNA 再分离试剂盒

ssRNA-dsRNA Re-Separation Kit

使用手册 V1.0

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

产品及特点

双链 RNA（dsRNA）是许多 RNA 病毒复制的中间体，其出现是动植物和真菌 RNA 病毒感染的标志，因此，它是初步诊断此类病毒感染的靶分子。此外，将 dsRNA 用于 NGS 分析可以排除大量 ssRNA 的干扰，筛选新病毒的灵敏度更高。而 IVT 制备 mRNA 时，dsRNA 具有更强的免疫原性，同时也不能有效作为蛋白模板，被当成污染物质，再纯化 mRNA 时必须充分去除。因此从初步纯化得到的 ssRNA 和 dsRNA 混合物中将二者再分离具有重要意义，为此本公司开发了此试剂盒。它具有下列特点：

1. 一站式，即开即用，用户不需要优化条件。
2. 能将 ssRNA 和 dsRNA 混合物中将二者分离。
3. 起始样本量在 5 μg 以上时回收率在 80%以上，低于 5 μg 时，回收率将降低到 50%。
4. 起始 RNA 可以是从植物组织、真菌菌丝、动物组织、培养细胞、血清/血浆、细胞裂解液、病毒培养液等纯化的 RNA 混合物，也可以是体外转录产物或 RNA-RNA 杂交产物。
5. 可以分离 30 bp 以上的 ssRNA 和 dsRNA，长度无上限。
6. 本产品足够 30 次微量分离实验。
7. 本产品仅适用于科研。

规格及成分

本产品第一部分用 logo 热封袋包装，常温运输和保存，有效期 1 年。

成份	编号	规格	包装
微量核酸沉淀剂	220313	30 mL×2	30 mL 本色瓶
离心吸附柱	220144	30 套	塑料袋
使用手册	220154-4sc	1 份	无

本产品第二部分用小扁盒包装，常温运输，2-8℃保存，有效期 1 年。

成份	编号	规格	包装
专用 RNA 溶解液	220154-4a	15 mL	15 mL 本色瓶
RNA 上柱液	220154-4b	5 mL	5 mL 本色瓶
单双链 RNA 分离介质悬液	220154-4c	30 mL	30 mL 本色瓶
ssRNA 洗涤液	220154-4d	15 mL	15 mL 本色瓶
ssRNA 洗脱液	220154-4e	13 mL	15 mL 本色瓶
dsRNA 洗涤液	220154-5d	15 mL	15 mL 本色瓶
dsRNA 洗脱液	220154-5e	13 mL	15 mL 本色瓶

运输及保存

常温运输，2-8℃保存，其中第一部分可以常温运输和保存，有效期一年。

自备物品

离心管，组织样品，75%乙醇，DEPC 水。

使用流程	**一、RNA 样本挂柱** 1. 用自备的方法从生物样本或体外转录反应中制备 RNA（含 ssRNA 和 dsRNA），确保没有蛋白和 DNA 污染，测定浓度并计算 RNA 量。本试剂盒每次分离需要 5 μg RNA 以保证 80%以上的回收率，如果起始 RNA 量不足 5 μg，则回收率可能会降低到 50%。 2. 在不超过 0.5 mL 的 RNA 样本中，按 1：2 的体积加入微量核酸沉淀剂（由于有沉淀，故用前需要颠倒 10 次混匀后取用。0.5 mL RNA 溶液则需要加入 1 mL 本产品），颠倒 10 次混匀，14,000×g 离心 15 分钟，吸弃上清。 3. 在离心管中加入 1 mL 自备 75%乙醇，颠倒 10 次后 14,000×g 离心 3 分钟，小心弃上清，不要丢失沉淀。 4. 短暂离心 30 秒后，将管底约 50 μL 残留液体吸弃。 5. 加入 450 μL 专用 RNA 溶解液，充分溶解 RNA 沉淀，然后加入 150 μL RNA 上柱液，颠倒 10 次充分混匀，14,000×g 离心 3 分钟以去除可能沉淀，将上清液转移至新的 1.5 mL 离心管，放冰上待用。 6. 将本试剂盒提供的单双链 RNA 分离介质悬液颠倒 10 次混匀，在介质沉淀前迅速转移 700 μL 到离心吸附柱中，10,000×g 离心 5 秒，弃穿透液，压缩后介质的体积约 350 μL。 7. 将第 5 步所得冰上待用的 600 μL 混合液加入到离心柱中压缩的介质上，盖上盖子，颠倒 1 分钟混匀，室温放置 30 分，期间每 10 分钟颠倒摇晃 1 分钟。 8. 10,000×g 离心 5 秒，弃穿透液。RNA 将挂柱到层析介质上。 **三、ssRNA 分离** 9. 向离心吸附柱中加入 500 μL ssRNA 洗涤液，盖上盖子后颠倒 1 分钟混匀，10,000×g 离心 5 秒，弃穿透液。 10. 重复上步操作 1 次，只是离心时间从 5 秒改成 30 秒。 11. 将离心吸附柱置于 RNase-free 离心试管中，加入 200 μL ssRNA 洗脱液，颠倒混匀 1 分钟，10,000×g 离心 5 秒，穿透液即 ssRNA 溶液。 12. 重复上步操作，但用上步所用的 RNase-free 离心试管（已经有 200 μL 穿透液）收集本步的穿透液，故离心后管中穿透液体积为 400 μL。 **四、dsRNA 分离** 13. 向离心吸附柱中加入 500 μL dsRNA 洗涤液，盖上盖子后颠倒 1 分钟混匀，10,000×g 离心 5 秒，弃穿透液。 14. 重复上步操作 1 次，只是离心时间从 5 秒改成 30 秒。

	15. 将离心吸附柱置于 RNase-free 离心试管中，加入 200 μL dsRNA 洗脱液，颠倒混匀 1 分钟，10,000×g 离心 5 秒，洗脱液即 dsRNA 溶液 16. 重复上步操作，但用上步所用的 RNase-free 离心试管（已经有 200 μL 穿透液）收集本步的穿透液，故离心后管中穿透液体积为 400 μL。 **四、ssRNA 和 dsRNA 回收** 17. 向第 12 步和第 16 步所得的 400 μL ssRNA 和 dsRNA 溶液中各加入 1 mL 微量核酸沉淀剂（由于有沉淀，故用前需要颠倒 10 次混匀后取用），14,000×g 离心 15 分钟，吸弃上清。 18. 在离心管中加入 1 mL 自备 75%乙醇，颠倒 10 次后 14,000×g 离心 3 分钟，小心弃上清。 19. 短暂离心 30 秒后，将管底约 50 μL 残留液体吸弃。 20. 分别用 100 μL 自备 DEPC 水溶解 ssRNA 和 dsRNA 沉淀，进行 OD 测定、电泳或其他后续分析。
关联产品	DNA-RNA 分离试剂盒