

PrimePrep™ Viral RNA/DNA Extraction Kit

Introduction

PrimePrep™ Viral RNA/DNA Extraction Kit는 plasma, serum, cell-free body fluids, cell-culture supernatants, virus-infected samples 등으로부터 viral RNA/DNA를 추출하는 제품입니다. 본 제품은 glass fiber membrane 기술의 사용 및 효율적인 buffer system의 구성으로 15분 이내 고순도의 viral RNA/DNA 추출이 가능합니다. 추출된 viral RNA/DNA는 PCR, RT-PCR, real-time PCR 등 다양한 실험에 적용이 가능합니다.

Kit Components

Reagents	Cat. No.	KR-2000 (50 Prep.)
Spin column		50 ea
Collection tube		100 ea
Buffer VRL		40 ml
Buffer VRW1		20 ml
Buffer VRW2		11 ml
Buffer VRE		10 ml

Before you begin

- Buffer VRW1에 absolute ethanol 20 ml을 첨가한다.
- Buffer VRW2에 absolute ethanol 44 ml을 첨가한다.
- β -Mercaptoethanol (14.2 M), isopropanol, 1.5 ml microcentrifuge tube 등을 준비한다.

주의사항

- This product is for research use only.
- Buffer VRL and Buffer VRW1 contains strong denaturant. Be careful to avoid contacting with skin and eyes. In the case of such contact, wash immediately with plenty water.

Experimental Protocol

- 1. 준비된 시료 (plasma, serum, cell-free body fluids, cell-culture supernatants, virus-infected samples) 200 μ l를 1.5 ml microcentrifuge tube에 넣는다.**
 - 사용하는 시료의 부피는 50~200 μ l이다.
 - √**Note:** Virus-infected samples은 세포주 (cell line)에 배양된 바이러스와 바이러스에 감염된 숙주의 분변이다.
분변의 경우 20~50 mg의 분변을 1.5 ml microcentrifuge tube에 시료를 옮겨 담고 250 μ l의 DEPC-DW를 넣고 10~15초 동안 vortexing한다.
이 후 탁상용 원심분기로 13,000 rpm, 상온에서 30초 동안 원심 분리하고, 150~200 μ l의 상등액을 취하여 실험에 사용한다.
- 2. 350 μ l의 Buffer VRL과 3.5 μ l의 β -mercaptoethanol (β -ME, 14.2 M)를 step 1의 tube에 넣고 10~15초 동안 vortexing 한다.**
 - Buffer VRL에 침전물이 생겼을 경우 40~50 °C의 incubator에 넣어 침전물을 완전히 녹인 후 사용한다.
 - Buffer VRL 1 ml 당 β -ME 10 μ l의 비율로 β -ME와 Buffer VRL를 시료가 포함된 tube에 넣어준다.
- 3. 상온 (15~25 °C)에서 10분 동안 반응시킨다.**
- 4. 원심분리기를 이용하여 3,000 rpm, 상온에서 5초 동안 원심 분리한다.**
 - Carryover에 의한 오염을 방지하기 위해 tube의 뚜껑에 묻은 반응액을 spin-down 한다.
- 5. 150 μ l의 isopropanol을 반응액에 넣고 5초간 vortexing한 후, 원심분리기를 이용하여 3,000 rpm, 상온에서 5초 동안 원심 분리한다. 반응액을 2 ml collection tube에 장착된 spin column에 옮겨 담는다.**
- 6. 원심분리기를 이용하여 13,000 rpm, 상온에서 30초 동안 원심 분리한다. 통과액은 버리고 spin column을 같은 collection tube에 다시 장착한다.**
- 7. 700 μ l의 Buffer VRW1을 spin column에 넣고 13,000 rpm, 상온에서 30초간 원심 분리한다. 통과액은 버리고 spin column을 새로운 collection tube에 장착한다.**
- 8. 700 μ l의 Buffer VRW2를 spin column에 넣고 13,000 rpm, 상온에서 30초간 원심 분리한다. 통과액은 버리고 spin column을 새로운 collection tube에 장착한다.**
 - 식물 유래 시료일 경우 500 μ l의 Buffer VRW2로 step 8.과 같은 방법으로 2회 세척한다. 이때 collection tube는 재 사용한다.
- 9. 남아있는 Buffer VRW2를 제거하기 위해 13,000 rpm에서 1분간 원심 분리한다. 새로운 1.5 ml microcentrifuge tube (제품에 포함되어 있지 않음)에 spin column을 장착한다.**
 - Ethanol이 남아있을 경우 후속 시험에 영향을 줄 수 있으므로 완벽히 제거한다.
- 10. 50~150 μ l의 Buffer VRE를 spin column의 membrane에 넣고 상온에서 1분간 정치한다.**
- 11. 13,000 rpm에서 1분간 원심 분리한다.**
 - 정제된 RNA/DNA는 -20 °C에서 보관하고, 바로 사용하지 않을 경우에는 -70 °C에서 보관한다.