

ViraTrap™ 逆转录病毒小量纯化试剂盒简明说明书 (BW-V1172)

产品简介

ViraTrap™ 逆转录病毒小量纯化试剂盒能从逆转录病毒感染的细胞培养液中快速、高效地分离纯化逆转录病毒，病毒回收率可达 60-70%。

传统上的逆转录病毒纯化是利用 CsCl 超速离心从细胞蛋白和培养基中纯化重组逆转录病毒，但这种方法耗时较长，处理的样品有限。

试剂盒中柱子可再生，用于同种逆转录病毒的纯化，但考虑病毒的吸附能力，每个柱子可再生一次。

产品构成

Catalog#	-00	-01	-02
Preps	2	10	20
RV Mini Columns	1	5	10
Press-On Cap	2	5	10
Centrifugal Filters*	2	10	20
15 mL Centrifugal Tubes	2	10	20
10× RV Wash Buffer	5 mL	25 mL	50 mL
2× RV Elution Buffer	5 mL	25 mL	50 mL
Regeneration Buffer	15 mL	75 mL	150 mL
User Manual	1	1	1

*: Centrifugal Filters (Cat# BW-CF01)可从 BEIWO 单独购买。

产品贮存及稳定性

本试剂盒自生产之日起可保存 12 个月。其中 RV Mini Columns 贮存在 4°C，其他试剂及用品可保存于室温（15-25°C）。

安全信息

逆转录病毒感染的细胞培养液和纯化后的病毒是潜在的生物危险品，对人类和动物具有传染性，因此，所有的操作步骤必须在生物安全级别至少二级条件下进行。

实验前需准备的材料

- ddH₂O
- PBS
- 0.45 μm 和 0.22 μm 过滤器
- 柱子支架

操作步骤

I. 收集逆转录病毒感染的细胞（每个柱子适用 1-2 个 T75 培养瓶或等体积的培养液）

1. 将逆转录病毒感染的细胞培养液，4°C，3,000 rpm，离心 10 min。用 0.45 μm 滤器过滤上清。

注：每个柱子可处理从 1-2 个 T75 瓶的细胞培养液。

2. 上清液可直接用来纯化。

注：上清可储存在-80°C，备以后纯化。

II. 平衡柱子

用 ddH₂O 稀释 10× RV Wash Buffer 至 1× RV Wash Buffer。

用 ddH₂O 稀释 2× RV Elution Buffer 至 1× RV Elution Buffer。

3. 将 RV Mini Column 置于 15 mL Centrifugal Tube，4°C，500 ×g 离心 2 min。将柱子置于架子上，掰断柱子底部的尖头，松开盖子使得液体随着重力从柱子中流下。依次加入 2 mL ddH₂O 和 5 mL 1× RV Wash Buffer，离心可以帮助去除加样过程中产生的气泡。

注：建议使用水平转子离心。

注：若流速太慢，可将柱子置于 15 mL Centrifugal Tube，500 ×g 离心 2-5 min。

注：试剂盒提供 Press-On Cap，用以阻止液体从柱内流下。

注：若流速太慢，确保没有可见的气泡（详情参考疑难解答）。

III. 上柱

4. 将上清液转移至 RV Mini Column，依靠重力缓缓流下。收集滤液二次上柱，确保最大的病毒吸附。

注：在上清液上柱或者二次上柱时，若见流速明显变慢，可将柱子置于 15 mL Centrifugal Tube，1,000 ×g 离心 2-5 min。

IV. 洗涤与洗脱

5. 加入 5 mL 1× RV Wash Buffer，洗涤柱子，重复一次。该步骤可通重力自由流下液体或 1,000 ×g 离心 5 min。

6. 加入 4 mL 1× RV Elution Buffer 洗脱病毒，并收集 4 mL 流出液。

V. 脱盐和缓冲液交换

7. 将步骤 6 中收集到的溶液加入到 Centrifugal Filter 的储样池中，4°C，3,000 rpm，离心 10 min，直到池中剩余约 500 μL 溶液。

加入 3.5 mL PBS 或其他任何想用的低盐缓冲液，4℃，3,000 rpm 离心 10 min，直到池中剩余约 500 μL 溶液。用移液枪在池中上下吹打数次并转移病毒溶液至干净的管中。

注：水平转子是首选。

注：如果不使用 **Centrifugal Filter**，病毒溶液也可以通过透析或其他脱盐柱进行脱盐。

注：不同的转子对应的离心时间不同。通常离心较短时间检查溶液液面，然后重复离心以得到理想的体积。

● 100 K Centrifugal Filter 装置中，浓缩体积与离心时间相对应（水平转子，4℃，3,000 rpm，起始体积 4 mL）。

离心 10 min：浓缩体积 176 μL；

离心 20 min：浓缩体积 76 μL；

离心 25 min：浓缩体积 58 μL。

● 100 K Centrifugal Filter 装置中，浓缩体积与离心时间的对应（35°角转子，4℃，7,000 rpm，起始体积 4 mL）。

离心 10 min：浓缩体积 97 μL；

离心 15 min：浓缩体积 54 μL；

离心 20 min：浓缩体积 35 μL。

8. 纯化后的病毒分成小份储藏在-80℃。感染目标细胞之前，建议将需要量的纯化后病毒加入到 5-10 mL 含目标细胞的培养基中，并在感染前用 0.22 μm 过滤器过滤。

VI. 纯化柱的再生

9. 纯化完成后，加入 **5 mL Regeneration Buffer** 至柱子，使溶液随着重力流过柱子。加入 **5 mL 1× RV Wash Buffer**。将帽子盖住

底部，拧紧帽子，用封口膜将柱子封住，用袋子封好，保存 4℃。

常见问题解答

问题	解决方法
树脂中有气泡导致流速慢	1. 底部按上帽子，加除气水到树脂中 1-2 cm 的高度； 2. 吹打或搅拌使得树脂悬浮； 3. 在柱子底部按上压盖，静置 5 min 后直至树脂沉淀。
看不见的气泡导致流速慢	1. 底部按上帽子，加除气水到树脂中 1-2 cm 的高度； 2. 将底部盖好盖子的柱子置于 15 mL 离心管中，4℃，1,000 ×g，离心 10 min。
上清很粘	将上清用 0.45 μm 滤器进行过滤。
用纯化后的病毒感染后，细胞死亡	1. 在转染细胞前将纯化后的病毒透析到 PBS 或者需要的缓冲液； 2. 使用脱盐柱进行缓冲液交换。

杭州倍沃医学科技有限公司

www.beiwobiomedical.com

400-115-2855

market@beiwobiomedical.com