

血液 RNA 提取试剂盒

R666034

储存温度

室温保存。

产品介绍

本试剂盒适用于从新鲜全血（用柠檬酸盐、EDTA 或肝素等抗凝剂处理过的血液样品）中提取总 RNA，可以处理多至 1.5 ml 的全血，洗脱得到分子量大于 200 bp 的高纯度 RNA，多个样品可以在 1 小时内同时完成。本产品无需 CsCl 纯化的超离心步骤和 LiCl 或乙醇沉淀，不含有苯酚或氯仿等有毒溶剂，经过纯化的 RNA 有效去除血红素、肝素等酶抑制剂和污染物，可直接用于各种分子生物学常规实验，如 RT-PCR、Northern Blot、Dot Blot、体外翻译等实验。

R666034	Component	50 T	Storage
R666034A	Buffer RBL (10×)	60 mL	RT
R666034B	Buffer RL	35 mL	RT
R666034C	Buffer RW1	40 mL	RT
R666034D	Buffer RW2 (concentrate)	11 mL	RT
R666034E	RNase-Free Water	10 mL	RT
R666034F	Spin Columns FL with Collection Tubes	50 sets	RT
R666034G	Spin Columns RM with Collection Tubes	50 sets	RT
R666034H	RNase-Free Centrifuge Tubes (1.5 mL)	50 EA	RT

自备试剂

β -巯基乙醇、70%乙醇（用无 RNase 的水配制）、无水乙醇。

实验前准备及重要注意事项

1. 预防 RNase 污染，应注意以下几方面：
 - (1) 使用无 RNase 的塑料制品和枪头，避免交叉污染。
 - (2) 玻璃器皿应在使用前于 180°C 高温下干烤 4 小时，塑料器皿可在 0.5M NaOH 中浸泡 10 分钟，用水彻底冲洗后高压灭菌。
 - (3) 配制溶液应使用无 RNase 的水。

- (4) 操作人员戴一次性口罩和手套，实验过程中要勤换手套。
2. 样品应避免反复冻融，否则影响 RNA 提取得率和质量。样品在 Buffer RL 中，可于 -70℃保存一个月。
3. 使用前请检查 Buffer RL 是否出现结晶或者沉淀，可置于 56℃水浴重新溶解。Buffer RL 在使用前请加入β-巯基乙醇，至终浓度为 1%。如 1 ml Buffer RL 加 10 μl β-巯基乙醇。加入β-巯基乙醇的 Buffer RL 室温可保存 1 个月。
4. 使用前，向 11mL Buffer RW2 中加入 44mL 无水乙醇。
5. 本试剂盒不能用于加入抗凝剂的冷冻血液样本 RNA 的提取。
6. 10×Buffer RBL 需在使用前将溶液用无 RNase 的水进行 10 倍稀释，稀释后置于 2-8℃保存。
7. 若下游实验对 DNA 非常敏感，建议用不含 RNase 的 DNase I 对 RNA 进行处理。
8. 所有离心步骤如无特殊说明均在室温下进行，且所有操作步骤动作要迅速。

操作步骤

1. 向 0.5-1.5 ml 新鲜的抗凝全血样本中，加入 5 倍体积的 1×Buffer RBL（请于使用前用无 RNase 的水将 10×Buffer RBL 稀释 10 倍），轻轻涡旋或颠倒混匀。冰上孵育 10-15 分钟，孵育过程中混匀两次。
注意：孵育过程中浑浊的悬液会变成透明，证明红细胞被裂解，必要时可以把孵育时间延长至 20 分钟。
2. 4℃ 2100 rpm (~400×g) 离心 10 分钟，小心吸弃上清。
3. 向以上沉淀中加入 2 倍血液样本体积的 1×Buffer RBL（请于使用前用无 RNase 的水将 10×Buffer RBL 稀释 10 倍），轻轻涡旋，充分重悬沉淀。
4. 4℃ 2100 rpm 离心 10 分钟，小心并彻底吸弃上清。
注意：此步一定要完全去除上清否则影响裂解导致 RNA 产量下降。
5. 向沉淀中加入 Buffer RL（使用前检查是否已经加入β-巯基乙醇），0.5-1.5 ml 血液样本加入 600μl Buffer RL，或小于 0.5 ml 血液样本加入 350μl Buffer RL，混匀。
6. 将所得液体转移到已装入收集管的过滤柱 (Spin Columns FL) 中，12000 rpm (~13,400 ×g) 离心 2 分钟，收集滤液，弃掉过滤柱。
7. 向所得滤液中加入 1 倍体积 (600μl 或 350μl) 的 70%乙醇（无 RNase 水配制），混匀。
注意：加入乙醇后可能会产生沉淀，不会影响后续实验。
8. 将上步所得溶液全部加入到已装入收集管的吸附柱 (Spin Columns RM) 中，若一次不能加完溶液，可分多次转入。12000 rpm 离心 15 秒，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。
9. 向吸附柱中加入 700μl Buffer RW1，12000 rpm 离心 15 秒，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。
可选步骤：如果要进行对微量 DNA 非常敏感的 RNA 实验，则用以下步骤替代步骤 9。
- 1) 向吸附柱中加入 350μl Buffer RW1，12000 rpm 离心 15 秒，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。
- 2) 配制 DNase I 混合液：取 70 μl Reaction Buffer 和 10 μl DNase I 储存液，轻柔混匀，配制成终 体积为 80 μl 的反应液。

注意：以上体系为按照我公司产品 DNase I 反应体系进行配制，应用其他公司产品请参考相应说明书。

- 3) 向吸附柱中直接加入 80 μ l 配制好的 DNase I 反应液，20-30 $^{\circ}$ C 孵育 15 分钟。
- 4) 向吸附柱中加入 350 μ l Buffer RW1, 12000 rpm 离心 15 秒，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。
10. 向吸附柱中加入 500 μ l Buffer RW2（使用前检查是否已加入无水乙醇），12000 rpm 离心 15 秒，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。
11. 重复步骤 10。
12. 12000 rpm 离心 2 分钟，倒掉收集管中的废液。将吸附柱置于室温数分钟，以彻底晾干。
注意：这一步的目的是将吸附柱中残余的乙醇去除，乙醇的残留会影响后续的酶促反应（酶切、PCR 等）。
13. 将吸附柱置于一个新的无 RNase 离心管中，向吸附柱的中间部位加入 30-50 μ l RNase-Free Water, 室温放置 1 分钟，12,000 rpm 离心 1 分钟，收集 RNA 溶液，-70 $^{\circ}$ C 保存 RNA，防止降解。

注意

- 1) RNase-Free Water 体积不应小于 30 μ l，体积过小影响回收率。
- 2) 如果要提高 RNA 的产量，可用 30-50 μ l 新的 RNase-Free Water 重复步骤 13。
- 3) 如果要提高 RNA 浓度，可将得到的溶液重新加入到吸附柱中，重复步骤 13。