全血总 RNA 快速提取试剂盒

KR016 50次

试剂盒组成、储存、稳定性:

试剂盒组成	保存	50 次
裂解液 RLS	4℃	55 ml
去蛋白液 WA	室温	12 ml 第一次使用前按说明加指定量乙醇
漂洗液 WBR	室温	12ml 第一次使用前按说明加指定量乙醇
RNase-free H_2O	室温	10ml
RNase-free 吸附柱 RA 和收集管	室温	50 套

本试剂盒在室温储存 12 个月不影响使用效果。

储存事项:

1. 环境温度低时溶液可能形成沉淀，可在 37℃水浴加热几分钟，即可恢复澄清。
2. 储存于低温（4℃或者 - 20℃）会造成溶液沉淀，影响使用效果。因此运输和储存均在室温下进行。
3. 避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、PH 值变化，各溶液使用后应及时盖紧盖子。

产品介绍:

试剂盒适合从 500 μl 新鲜的或者 - 70℃冻存半年以内的全血或者骨髓中分离纯化总 RNA（包括全血中的病毒 RNA）。本试剂盒采用强烈的裂解液溶解并沉淀去除血红蛋白和基因组 DNA。在含有 RNA 的上清液中补加乙醇后加入核酸纯化柱，RNA 结合在核酸纯化柱上，残留的蛋白与 PCR 抑制物则被过滤除去，RNA 经 Buffer WA 和 Buffer WBR 洗涤后， 用 RNase-Free Water 洗脱，即可用于各种分子生物学实验。

产品特点:

1. 完全不使用有毒的苯酚，氯仿，Beta 巯基乙醇等试剂，也不需要乙醇沉淀等步骤。

2. 快速，简捷，单个样品操作一般可在 25 分钟内完成。

3. 提取 RNA 可以达到高水准的 2.1-2.2 的纯度标准。

注意事项

1. 所有的离心步骤均在室温完成，使用转速可以达到13,000 rpm的台式离心机即可。

2. 裂解液RLS和去蛋白液WA中含有盐酸胍/异硫氰酸胍化合物，操作时要戴乳胶手套，避免沾染皮肤，眼睛和衣服。若沾染皮肤、眼睛时，要用大量清水或者生理盐水冲洗。

3. 尽量使用3个小时内的新鲜全血或者骨髓进行RNA提取，如果不能及时处理新鲜全血进行RNA提取，可将新鲜全血于-70℃冻存至多半年或者用裂解液RLS裂解后于-20℃冻存至多2周不影响RNA的提取效率。

4. 预防RNase污染，应注意以下几方面：

1) 经常更换新手套。因为皮肤经常带有细菌，可能导致RNase污染。

2) 使用无RNase的塑料制品和枪头避免交叉污染。

3) 配制溶液应使用无 RNase 的水。（将水加入到干净的玻璃瓶中，加入 DEPC 至终浓度 0.1%(v/v)，37℃放置过夜，高压灭菌。）

5. 关于DNA 的微量残留：

即使电泳检测不到基因组 DNA 的条带，也不代表所获得的 RNA 中没有基因组 DNA。如果要彻底去除 DNA 的污染，请用不含 RNA 酶的 DNase I 处理获得的 RNA。

操作步骤：（实验前请先阅读注意事项）

提示：第一次使用前请先在漂洗液 WBR 瓶和去蛋白液 WA 瓶中加入指定量无水乙醇!

1. 取一个 2 毫升的离心管（无 RNA 酶，带盖，自备）依次加入 1 毫升裂解液 RLS 和 500 微升全血或者骨髓，旋涡震荡 30 秒，混合均匀。

2. 立刻 13,000 rpm 离心 10 分钟。

3. 在一个 1.5 毫升的离心管（无 RNA 酶，自备）中加入 500 微升无水乙醇，然后加入 700 微升离心上清，用吸头吸注 2 次混匀。上清中所含的色素，在后面洗涤步骤中可以除去，不影响 RNA 纯化效果。

4. 立即将混合物分 2 次（每次小于 720 微升）加入一个吸附柱 RA 中（吸附柱放入收集管中）13,000 rpm 离心（分 2 次离心）30 秒，弃掉废液。

5. 加入 500 微升去蛋白液 WA **（请先检查是否已加入无水乙醇!）**，室温放置 30 秒，13，000rpm 离心 30 秒，弃掉废液。

6. 加入 700μl 漂洗液 WBR **（请先检查是否已加入无水乙醇!）**，13,000 rpm 离心 30 秒，弃掉废液。

7. 将吸附柱 RA 放回空收集管中，13,000 rpm 离心 2 分钟，除去漂洗液中的乙醇。

8. 取出吸附柱 RA，放入一个干净 1.5ml 离心管中，根据预期 RNA 产量**在吸附膜的中间部位**加 50μl RNase free water， 室温放置 1 分钟，1,3,000 rpm 离心 1 分钟得到 RNA 溶液。

洗脱缓冲液体积不应少于 30 μl，体积过小影响回收效率。如果需要得到更大浓度的 RNA，将离心得到的 RNA 溶液加回到吸附柱重复洗脱一遍。