

RNAliquid Blood RNA Kit

RNAliquid 超速全血(液体样本)总 RNA 提取试剂盒

目录号: RN23

❖ 试剂盒组成、储存、稳定性:

| 试剂盒组成 | 50 次(RN2302) |
|-----------------------------|---------------------------------|
| 裂解液 RLS (4℃避光) | 50 ml |
| 去蛋白液 RE | 25ml |
| 漂洗液 RW | 10 ml <i>第一次使用前按说明加指定量乙醇</i> |
| RNase-free H ₂ O | 10 ml |
| RNase-free 吸附柱 RA | 50 个 |
| 收集管 (2ml) | 50 个 |

本试剂盒在室温储存 12 个月不影响使用效果。

储存事项:

1. 因此运输和储存均在室温下 (15℃—25℃) 进行。裂解液 RLS 可以常温运输, 收到后 4℃避光可长期保存, 常温保存 3 个月也不影响使用质量。
2. 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:

改进的异硫氰酸胍/酚一步法 (液体样品专用 TRIzol LS 法) 裂解细胞和灭活 RNA 酶, 然后总 RNA 在高离序盐状态下选择性吸附于离心柱内硅基质膜, 再通过一系列快速的漂洗—离心的步骤, 去蛋白液和漂洗液将细胞代谢物、蛋白等杂质去除, 最后低盐的 RNase free water 将纯净 RNA 从硅基质膜上洗脱。

❖ 产品特点：

1. 离心吸附柱内硅基质膜全部采用特制吸附膜，柱与柱之间吸附量差异极小，可重复性好。
2. 结合了异硫氰酸胍/酚一步法试剂稳定性好，纯度高和离心柱方便快捷的优点，不需要异丙醇沉淀和乙醇洗涤过程，RNA 可以直接从离心柱上洗脱避免了过度干燥不易溶解问题。
3. 独有的 RLS 裂解液配方，可直接裂解全血，不需要先裂解去除红细胞。
4. 多次漂洗去蛋白过程，提取 RNA 纯度更高。
5. 有效的去除了 5S 在总 RNA 中含量，提高了纯度。

❖ 注意事项

1. **第一次使用前请先在漂洗液RW瓶中加入指定量乙醇，加入后请及时打钩标记已加入乙醇，以免多次加入！**
2. 本试剂盒抑制RNA酶效果极佳，所有离心步骤如未加说明，均可在常温进行。
3. 裂解液RLS和去蛋白液RE中含有刺激性有害化合物，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。**
4. 考虑到环保问题，本试剂盒不含有实验室常用试剂氯仿，使用前需要自备氯仿。
5. 常规的琼脂糖凝胶电泳和变性胶电泳均可以用来分析RNA的质量。好的RNA产物在电泳后应该可以看到明显的二条优势核糖体RNA带，分别为~5Kb (28S)，~2Kb (18S)，条带亮度比值约为2: 1。有时候也可以看到~0.1kb和0.3Kb(5S, tRNA)带。但有时候根据不同的物种如某些植物组织可以看到4, 5条带也属于正常现象，如果RNA未成熟的前体或者不均一核RNA、小核RNA提取出来也可能看到介于7Kb和15Kb之间的不连续的高分子量条带。
6. 检测OD₂₆₀/OD₂₈₀吸光度比值时，如需稀释RNA样品应该用TE (PH 8)，如果用水稀释后检测，由于一般水离子强度和PH值低，会使OD₂₈₀升高，从而使比值降低。
7. 加入裂解液RLS匀浆后，加氯仿前，样品可在 -60℃-70℃ 保存一个月以上。
8. 若提取细菌RNA，推荐EASYspin系列细菌RNA提取试剂盒（目录号：RN08和RN43）。

❖ **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RW瓶中加入指定量无水乙醇！

1. 取0.25 ml 血液（或血清，血浆，脑脊液等等）加入0.75 ml 裂解液RLS，用加样枪吹打液体样品几次以帮助裂解样品中细胞。裂解液RLS 和液体样品的终体积比总是3：1。
2. 将样品剧烈震荡混匀后，在室温静置5分钟以使核蛋白体完全分解。
3. 加0.2 ml 氯仿，剧烈振荡15秒并室温静置2分钟。
4. 于4℃ 13,000 rpm 离心10分钟，样品会分成三层：下层有机相，中间层和上层无色的水相，RNA存在于水相中。水相层的容量大约为所加 RLS 体积的60%，把水相转移到新管中，进行下一步操作。
5. 加入0.5 倍体积无水乙醇，颠倒混匀（此时可能会出现沉淀）。得到的溶液和可能沉淀一起转入吸附柱RA中（吸附柱套在收集管内）。
6. 室温（以下步骤均为室温）13,000 rpm 离心30 秒，弃掉废液，将吸附柱重新套回收集管。
7. 加500 μl 去蛋白液RE，12,000 rpm 离心30 秒，弃掉废液。
8. 加入500 μl 漂洗液RW（请先检查是否已加入无水乙醇！），12,000 rpm 离心15 秒，弃掉废液。
9. 重复一遍步骤8。
10. 将吸附柱RA放回空收集管中，13,000 rpm 离心2分钟，尽量除去漂洗液，以免漂洗液中残留乙醇抑制下游反应。
11. 取出吸附柱RA，放入一个RNase free离心管中，根据预期RNA产量在**吸附膜的中间部位**加30-50μl RNase free water（事先在 65-70℃水浴中加热效果更好），室温放置2分钟，13,000 rpm 离心1分钟。如果需要较多RNA，可将得到的溶液重新加入离心吸附柱中，离心1分钟，或者另外再加30μl RNase free water，离心1分钟，合并两次洗脱液。

如果需要 RNA 浓度较高，可以适当减少洗脱体积，但是最小体积最好不少于 30μl，体积过小降低 RNA 洗脱效率，减少 RNA 产量。

