版本号:250309

RNAliquid Blood RNA Kit

RNAliquid 超速全血(液体样本)总 RNA 提取试剂盒

目录号：RN23

❖ 适用范围：

适用于全血、血浆、血清、细胞培养上清、腹水、尿液、脑脊液、牛奶等各种液体样品RNA提取。

❖ 试剂盒组成、储存、稳定性：

试剂盒组成	50 次(RN2301)
TRIpure LS Reagent（4°C 避光）	50 ml
去蛋白液 PE	16 ml 第一次使用前按瓶子标签指示加无水乙醇
漂洗液 RW	10 ml 第一次使用前按瓶子标签指示加无水乙醇
RNase-free H_2O	5 ml
RNase-free 吸附柱 RA	50 个
收集管（2 ml）	50 个

本试剂盒（除低温组分外）在室温储存 12 个月不影响使用效果。

储存事项：

1. 运输和储存均在室温下（15°C−25°C）进行。TRIpure LS 可以常温运输，收到后 **4°C 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， LS=Liquid Sample 首字母缩写）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. TRIpure LS Reagent （LS=Liquid Sample）是液体样品专用的 TRIzol，它对应的不是 Thermofisher/Invitrogen 的普通 TRIzol Reagent（Thermofisher 货号：15596026），它对应的是 Thermofisher 的 TRIzol LS Reagent（Thermofisher 货号：10296010），这是为全血/液体样品专门开发的专用 TRIzol。和普通 TRIzol 比，它有两个显著优点，一是它特殊设计可以处理更大体积的血液样品，从而提高浓度。二是它和 TRIzol 不同， TRIzol 需先用红细胞裂解液裂解红细胞得到白细胞后，才能用 TRIzol 去裂解。而 TRIpure LS 是可以直接裂解全血，极大简化了步骤。
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. 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。
2. TRIpure LS Reagent和去蛋白液PE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。**

3. 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（或者购买艾德莱氯仿替代试剂，货号：RN66）。。

4. 常规的琼脂糖凝胶电泳和甲酰胺变性胶电泳均可以用来分析RNA的质量。好的RNA产物在变性电泳后应该可以看到明显的二条优势核糖体RNA带，分别为~5 Kb（28S），~2 Kb（18S）（注意普通的琼脂糖电泳，28S和18S大约在2 Kb和 1Kb位置，而且可以随着RNA空间二级结构不同，电泳条带所在位置不是固定的），条带亮度比值约为2:1。有时候也可以看到~0.1 kb和0.3 Kb(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7 Kb和15 Kb之间的不连续的高分子量条带。

5. 检测OD_{260}/OD_{280}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OD_{280}升高，从而使比值降低。

6. 加入TRIpure LS匀浆后，加氯仿前，样品可在 −60°C至−70°C 保存一个月以上。

7. 若提取细菌RNA，推荐EASYspin系列细菌RNA提取试剂盒（目录号：RN43）。

❖ 操作步骤：（实验前请先阅读注意事项）

⇨ 第一次使用前按照漂洗液 RW 和去蛋白液 PE 瓶子标签指示加入无水乙醇，充分混匀，加入后请及时在方框打钩标记已加入，以免多次加入！

1. 取0.25 ml 血液（或血清，血浆，脑脊液等等)加入0.75 ml TRIpure LS，用加样枪吹打液体样品几次以帮助裂解样品中细胞。TRIpure LS 和液体样品的终体积比总是3:1。血液或者液体样品特别粘稠可以适当减少用量，体积差可以用水补足到0.25 ml。

2. 将样品剧烈震荡混匀后，在室温静置5 min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。

▲如果氯仿无法获得，可以购买艾德莱的氯仿替代试剂（货号：RN66）

4. 于4°C 13, 000 rpm 离心10 min，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TRIpure LS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 sec，弃掉废液，将吸附柱重新套回收集管。

7. 加500 µl 去蛋白液PE**（请先检查是否已加入无水乙醇!）**, 13, 000 rpm 离心30 sec，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!）**，13, 000 rpm 离心15 sec，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 min，尽量除去漂洗液，以免漂洗液中残留乙醇抑制下游反应。

11. 将吸附柱RA转移至新的1.5 ml离心管中，向吸附柱膜中央悬空滴加30−50 µl的RNase-free ddH_2O，静置2 min，13, 000 rpm离心1 min。

    ▲洗脱体积建议不少于 30 µl，体积过小会影响核酸回收效率。

    ▲以下步骤都可以帮助提高 RNA 产物浓度：

    RNase-free ddH_2O 于洗脱前先在 70-90°C 预热；

    将第一次洗脱液重新加入吸附柱进行第二次洗脱。