

全血RNA提取试剂盒

(使用说明书 Ver.1.1.3)

产品说明

- ◇ 适用于从全血或血液样品沉淀的细胞中提取总 RNA (含 microRNA)。
- ◇ 兼容各种抗凝剂的血液 (EDTA,肝素, 柠檬酸等)。
- ◇ 经该试剂盒提取的无 DNA 污染的 RNA, 配合使用试剂盒内的 DNase I, 可应用于各种下游实验。
- ◇ 试剂盒内提供的 DNA/RNA 保护剂 可有效防止 RNA 降解并且可常温运输血液样品。

产品货号:

TR121- 10 (10次反应)

TR121- 50 (50次反应)



扫描二维码了解更多产品信息

目录Contents

产品组份	1
注意事项	1
产品特性	2
溶液制备	2
操作步骤	2
RNA提取步骤（针对哺乳动物全血）	2
RNA提取步骤（针对血液细胞沉淀）	3
组件查询	4

产品组份

试剂盒组成	10次	50次	保存
DNA/RNA 保护剂 (2X)	10 ml	50 ml	室温
RNA回收液	4 ml	16 ml	室温
RNA预洗液	5 ml	25 ml	室温
RNA洗涤液 (未添加乙醇)	5 ml	24 ml	室温
	第一次使用前按说明加指定量乙醇		
无DNase/RNase水	1 ml	4 ml	室温
DNase I	250U X 1管	250U X 1管	-20°C
DNA消化液	1 ml	4 ml	室温
PK 消化液	1 ml	5 ml	室温
蛋白酶K	5mg*2	20 mg * 2	-20°C
蛋白酶K保存液	500 μ l*2	1.2ml*2	-20°C
1号C纯化柱	10个	50个	室温
3号CG纯化柱(绿)	10个	50个	室温
收集管 (2ml)	20个	50个*2	室温

注意事项

- ◇ 本产品自售出之日起提供一年质量保证。所有试剂均通过严格质量检测，确保性能稳定可靠。
- ◇ 本产品仅供专业研究人员在受控环境下使用。操作人员须佩戴防护手套及护目装置等个人防护装备，并严格遵守所在机构的安全操作规程。请注意，部分试剂可能具有刺激性，使用时需特别谨慎。
- ◇ 避免试剂长时间暴露于空气中，以防挥发、氧化或pH值变化，使用后请立即盖紧瓶盖，并按照说明书要求妥善储存。

产品特性

- ◇ 样品来源：1ml以内的全血（新鲜或者保存在DNA/RNA保护剂中的血液），血清或者血浆，同时也可提取血液细胞沉淀（PBMC,WBC,血黄层）。
- ◇ 样品保存：DNA/RNA保护剂可有效裂解细胞，灭活核酸酶和各种病毒，对于常温下安全运输样品是最佳方案。
- ◇ RNA大小：≥17核苷酸。
- ◇ RNA纯度：高质量的RNA可应用于高通量测序等敏感的下游实验，需配合试剂盒内的DNase I来完全去除DNA。
- ◇ RNA回收率：可从1ml血液中回收得到2-10µg的RNA（根据个体和物种的区别会有所不同）。
- ◇ 所需设备：台式离心机和涡旋仪。

溶液制备：

使用前务必配制好 RNA 洗涤液，添加好乙醇后在试剂瓶上做好标记

需要添加96ml100%的乙醇（或104ml95%乙醇）到24ml的 RNA洗涤液 中。

溶解冻干粉状态的DNase I时，需按照管子上的说明添加 无DNase/RNase水。

一般250U的DNase I 需要添加275µl的无DNase/RNase水，之后放于-20℃保存。

使用前需要添加1060µl保存液到20mg蛋白酶K 里，蛋白酶K的终浓度约为20mg/ml，混合之后需要放到-20℃保存。

操作步骤：

以下离心步骤的离心力均在10,000-16,000 x g 时间30秒，除非特殊说明。

RNA提取步骤（针对哺乳动物全血）

1. 添加200µl DNA/RNA 保护剂到200µl全血样品中并且混匀。
2. 添加8µl蛋白酶K溶液并且混匀。在室温下(20-30℃)孵育30分钟。
如血液样品大于200µl则需要等比例调整DNA/RNA 保护剂和蛋白酶K的用量。
3. 添加等体积的异丙醇并且涡旋混匀。
4. 将混匀的样品添加到3号CG纯化柱(绿) 中并且套在收集管内离心，随后将3号CG纯化柱(绿) 转移到一个干净的无DNase/RNase离心管中（不提供）。
5. 添加200µl的RNA回收液到3号CG纯化柱(绿) 里，离心。
6. 添加200µl乙醇（95-100%）到上一步（步骤5）的滤出液中混匀。
7. 将混合物添加到1号C纯化柱中，并且套在一个收集管内，离心，倒掉滤出液。
8. 柱上DNase I消化处理（推荐），此步骤主要是为了去除痕量的DNA。
 - a) 添加400µl的RNA洗涤液到1号C纯化柱里，离心,去除滤出液。

b)对于每一次的样品处理需要制备40μl的DNase I反应液。配比为 DNase I, 5μl; DNA消化液, 35μl。

c)直接添加40μl的DNase I反应液到1号C纯化柱上, 在室温下(20-30°C)孵育15分钟。

9. 添加400μl的RNA预洗液到1号C纯化柱里, 离心, 去除滤出液。
10. 添加700μl的RNA洗涤液到1号C纯化柱里, 离心, 去除滤出液。
11. 添加400μl的RNA洗涤液到1号C纯化柱里, 离心, 去除滤出液。
12. 空转2分钟以去除残留的乙醇, 以免抑制下游反应。
13. 取出1号C纯化柱, 放入一个无RNA酶的离心管中, 在吸附膜的中间部位加15μl 无DNase/RNase水(事先在65-70°C水浴中加热效果更好), 室温放置2分钟, 离心1分钟洗脱RNA。

RNA提取步骤(针对血液细胞沉淀)

此步骤兼容血液细胞沉淀, 包括 PBMC, WBC(例如用RBC裂解后的样品), 血黄层。操作之前需先将2X DNA/RNA 保护剂用无核酸酶的水稀释到1X

1. 添加300μl 1X DNA/RNA 保护剂到沉淀的样品中重悬。
2. 添加30μl PK消化液和15μl蛋白酶K溶液到样品中混匀。在55°C下孵育30分钟。
3. 孵育之后, 涡旋样品并且最大速离心2分钟来沉淀细胞。将水相上清转移到一个干净的无DNase/RNase离心管中(不提供)。
4. 添加1体积的RNA回收液到离心管中混匀。
5. 将混匀的样品添加到3号CG纯化柱(绿)中并且套在收集管内离心。保留滤出液。
6. 添加1体积的乙醇(95-100%)到上一步(步骤5)的滤出液中混匀。
7. 将混合物添加到1号C纯化柱中, 并且套在一个收集管内, 离心, 倒掉滤出液。
8. 柱上DNase I消化处理(推荐), 此步骤主要是为了去除痕量的DNA。

a)添加400μl的RNA洗涤液到1号C纯化柱里, 离心, 去除滤出液。

b)对于每一次的样品处理需要制备40μl的DNase I反应液。配比为DNase I, 5μl; DNA消化液, 35μl。

c)直接添加40μl的DNase I反应液到1号C纯化柱上, 在室温下(20-30°C)孵育15分钟。

9. 添加400μl的RNA预洗液到1号C纯化柱里, 离心, 去除滤出液。
10. 添加700μl的RNA洗涤液到1号C纯化柱里, 离心, 去除滤出液。
11. 添加400μl的RNA洗涤液到1号C纯化柱里, 离心, 去除滤出液。
12. 空转2分钟以去除残留的乙醇, 以免抑制下游反应。
13. 取出1号C纯化柱, 放入一个无RNA酶的离心管中, 在吸附膜的中间部位加15μl 无DNase/RNase水(事先在65-70°C水浴中加热效果更好), 室温放置2分钟, 离心1分钟洗脱RNA。

组件查询

组件名称	货号	规格	规格
DNA/RNA 保护剂 (2X)	TR120-10	10 ml	室温
	TR120-50	50 ml	
RNA回收液	TR1070-1-4	4 ml	室温
	TR1070-1-16	16 ml	
RNA预洗液	TR1060-2-5	5 ml	室温
	TR1060-2-25	25 ml	
RNA洗涤液 (未添加乙醇)	TR1003-3-5	5 ml	室温
	TR1003-3-24	24ml	
无 DNase/RNase 水	TW1001-1	1ml	室温
	TW1001-4	4 ml	
DNase I	TE1009-A	250U	-20°C
DNA消化液	TE1010-1	1ml	室温
	TE1010-4	4 ml	
PK消化液	TR1200-1-1	1 ml	室温
	TR1200-1-5	5 ml	
蛋白酶K	TD3001-2-A	5 mg	-20°C
	TD3001-2-B	20 mg	
蛋白酶K保存液	TD3001-2-C	500µl	-20°C
	TD3001-2-D	1.2ml	
1号 C 纯化柱	TC1004-10	10个	室温
	TC1004-50	50个	
3号 CG 纯化柱(绿)	TC1006-10-G	10个	室温
	TC1006-50-G	50个	
2ml收集管	TC1001-20	20个	室温
	TC1001-50	50个	