

**Blood Total RNA Extraction Kit****全血总 RNA 抽提试剂盒****说明书****【产品简介】**

本试剂盒采用独特的配方和添加剂,能高效的分离血液中的 RNA,另外本试剂还可以有效地抑制各种外源性和内源性的 RNA 酶,同时结合特制的纯化柱,能最大限度的保持 RNA 的完整性、高得率以及纯度,可用于 RT-PCR、Real Time PCR、芯片分析、Northern Blot 等下游实验,并能保留小 RNA,为需要进行小 RNA 研究,如 MicroRNA 的用户提供了强有力的工具。

【试剂盒组成】

试剂盒组成	LN-0117A (50 次)	LN-0117B (100 次)
红细胞裂解液	60ml	120ml
裂解液 LB	60ml	120ml
漂洗液 WB	24ml	48ml
洗脱液 EB	2×2ml	2×2ml
离心纯化柱	50 个	100 个
说明书	1 份	1 份

注意: 1. 本试剂盒最多处理 2ml 健康人类全血(健康人的全血中白细胞含量约为 4000-7000 个白细胞/ul 血液,本试剂盒最多处理白细胞数约为 10^7)

2. 本试剂盒只适用于新鲜全血,不适用于冻存处理的血液。

3. 使用前请在按照标签提示,向漂洗液 WB 加入适量无水乙醇。

【试剂运输及储存条件】

试剂运输可在 2-8℃ 环境下进行。储存时,裂解液 LZ 须置 4℃ 保存,其余组分可保存在室温。本试剂盒有效期为 12 个月,请在有效期内使用。

【操作步骤】

1. 在血液样品中加入 3 倍体积红细胞裂解液(例如,300 μ l 血液加入 900 μ l 红细胞裂解液),颠倒混匀,室温放置 5 分钟,期间再颠倒混匀几次,10000g 离心 1 分钟(若是离心机最高转速不允许,可以 2500g 离心 5 分钟),吸去上清,留下白细胞沉淀进行后续操作。如果发现红细胞裂解不完全,可以重复上述步骤 1 次。通常极微量的红细胞不会影响后续的一些检测。
2. 洗涤 1-2 次:加入适量 PBS、HBSS、生理盐水或无血清培养液,重悬沉淀,400-500g 离心 2-3 分钟,弃上清。可再重复 1 次,共洗涤 1-2 次。洗涤液的用量通常应至少为细胞沉淀体积的 5 倍。4℃ 离心效果更佳。
3. 将 1ml 裂解液 LB 的加入到白细胞沉淀的离心管中用移液器吹打数次混匀。将裂解物转移至无 RNA 酶的 1.5ml 离心管中,充分振荡 30s,之后操作见第 4 步。

注意: 如果不是正常人类全血,需要根据血液中的白细胞数量确定裂解液 LB 使用的量,以保证白细胞被完全裂解。

4. 把裂解物于室温静置 5min 后,加入 0.2ml 三氯甲烷,小心盖上管盖,剧烈摇动 15s。
5. 将离心管再次置于室温 2-3min,然后 4℃,12,000 x g 离心 15min。
注意: 离心会使溶液分为三相,含有 RNA 的水相上清液,包含蛋白和 DNA 的中层以及包含 DNA 的下层有机相。在 4℃ 离心对于溶液的分层是非常关键的。
6. 将上清水相转移至另一新的无 RNA 酶离心管中,并加入 1.5 倍体积的 100% 乙醇,漩涡振荡混匀 5s。
7. 立即吸取 700 μ l 样品以及有可能形成的沉淀,加入带有 2ml 收集管的离心纯化柱,轻盖盖子,室温静置 2min。10,000



- x g, 室温离心15s, 弃尽废液。
8. 将剩余的样品转移至离心柱, 重复第7步。
 9. 往离心柱中加入700 μ l漂洗液WB, 轻盖盖子, 10,000 x g, 室温离心15s, 弃尽废液。
注意: 第一次使用前请确认是否已经按照标签提示往WB中加入适量无水乙醇。
 10. 往离心柱中加入500 μ l漂洗液WB, 轻盖盖子, 10,000 x g, 室温离心15s, 弃尽废液。
 11. 重复第10步, 往离心柱中加入500 μ l漂洗液WB, 轻盖盖子, 10,000 x g, 室温离心15s, 弃尽废液。洗涤后10,000 x g 离心空柱2min干燥硅胶膜。
注意: 完全去除洗液对最后溶解是非常重要的, 洗液的残留会影响最终的洗脱。
 12. 将离心柱转移至一新的无RNA酶的1.5ml离心管中, 往硅胶膜中央滴加洗脱液EB, 轻盖管盖, 室温静置5min, 10,000 x g 离心1min洗脱RNA。
注意: 洗脱体积不宜小于30 μ l, 否则会影响洗脱效果。
 13. 把洗脱液滴加回硅胶膜重复第7步洗脱。
 14. 如需后续操作, 请始终将溶解的RNA至于冰上, 保存请置于-80 $^{\circ}$ C。

【RNA质量判定】【RNA质量判定】

实例: 用常规比色皿测量RNA浓度。

RNA样品总体积: 50 μ l

稀释因子, 1:100 (10 μ l RNA样品+990 μ l无RNA酶高压灭菌水)

A260读值: 0.20 (在1ml比色皿中测量)

因此, RNA样品浓度= $40 \times A260 \times \text{稀释因子} = 40 \times 0.20 \times 100 = 800 \mu\text{g/ml}$

RNA样品的得率= $800 \times 0.05 = 40 \mu\text{g}$

实例: 用超微量比色皿测量 RNA浓度。

RNA样品总体积: 50 μ l

稀释因子, 1:100 (1 μ l RNA样品+99 μ l无RNA酶高压灭菌水)

A260读值: 0.20 (在超微比色皿中测量)

因此, RNA样品浓度= $40 \times A260 \times \text{稀释因子} = 40 \times 0.20 \times 100 = 800 \mu\text{g/ml}$

RNA样品的得率= $800 \times 0.05 = 40 \mu\text{g}$

注: 本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。