

全血（液体样品）总 RNA 快速提取试剂盒

货号：DP203-01

规格：50 次

保存：15-25℃

【产品简介】

本产品为改进的异硫氰酸胍/酚，一步法裂解细胞和灭活 RNA 酶，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。

【产品组分】

货号	组分	体积
DP203-101	裂解液 RLS （4℃避光保存）	50 ml
DP203-102	去蛋白液 RE	25 ml
DP203-103	漂洗液 RW（首次使用前加入 42 ml 无水乙醇）	10 ml
DP203-104	RNase-free Water	10 ml
DP203-105	吸附柱 RA 和收集管（RNase-free）	50 套

【保存条件】

室温保存，保质期一年。

【产品特点】

1. 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。
2. 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。
3. 多次漂洗去蛋白过程，提取 RNA 纯度更高。
4. 有效的去除了 5S 在总 RNA 中含量，提高了纯度。

【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的离心机。
2. 裂解液RLS 和去蛋白液RE中含有刺激性化合物，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. 本试剂盒不含有实验室常用试剂氯仿，用户使用前需要自备氯仿。
4. 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。
5. 检测OD₂₆₀/OD₂₈₀吸光度比值时，RNA样品应该溶于TE后检测，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。

6. 加入裂解液RLS后，加氯仿前，样品可在 -60°C - 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。

【使用方法】

1. 每0.25ml液体样品(血清，血浆，脑脊液等等)加入0.75ml 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。每 $5\sim 10\times 10^6$ 个细胞至少加入0.75ml 裂解液RLS。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，在 $15-30^{\circ}\text{C}$ 条件下孵育5分钟以使核蛋白体完全分解。
3. 加入0.2ml氯仿，剧烈振荡15秒并室温下放置2分钟。
4. 于 4°C 12,000rpm 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，12,000rpm 离心45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45秒，弃掉废液。
9. 再次加入500 μl 漂洗液RW，12,000 rpm 离心45秒，弃掉废液。
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30-50 μl RNase free water（预先在 $65-70^{\circ}\text{C}$ 水浴中加热效果更好），室温放置2分钟，12,000 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30 μl 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，但是最小体积不少于 30 μl ，体积过小降低 RNA 洗脱效率，减少 RNA 产量。

【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，承诺为您更换等量合格产品，本公司对此产品所承担的责任仅限于产品价值本身。