

Blood Total RNA Isolation Kit
血液总 RNA 提取试剂盒

目录号：RNE04

试剂盒组成

试剂盒组成	保存	RNE04-01 (50 次)	RNE04-02 (100 次)
Buffer TLS	4°C避光	50 ml	100 ml
70%乙醇	室温	9 ml	18 ml
Buffer RW1	室温	25 ml	50 ml
Buffer RW2	室温	13 ml	25 ml
RNase-free H ₂ O	室温	5 ml	10 ml
Flying Shark [®] Columns RA	室温	50 个	100 个
RNase-free Collection Tubes	室温	50 个	100 个
Manual		1 份	

保存方法

Buffer TLS 可常温运输，收到后 4°C避光保存。其余组分室温保存 12 个月内效果稳定。



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。

产品介绍

改进的异硫氰酸胍/酚一步法迅速裂解细胞和灭活细胞 RNA 酶，用乙醇调节结合条件后，总 RNA 选择性吸附于离心柱内硅基质膜上，再通过一系列快速的漂洗—离心的步骤将细胞代谢物，蛋白等杂质去除，最后低盐的 RNase free H₂O 将纯净 RNA 从硅基质膜上洗脱。提取的 RNA 纯度高，质量稳定可靠，可直接应用于下 RT-PCR、Northern Blot、Dot Blot 和体外翻译等实验。

产品特点

1. 结合了异硫氰酸胍/酚一步法试剂稳定性好和离心柱纯度高的优点，不需要异丙醇沉淀，RNA 可以直接从离心柱上洗脱，避免了过度干燥不容易溶解的问题。
2. 优化的 Buffer TLS 配方，可直接裂解全血，不需要去除红细胞。
3. 多次柱漂洗确保高纯度，OD260/OD280 典型的比值达 1.9-2.2，无 DNA 残留，可用于 RT-PCR，Northern-blot 等各种实验。

标准抽提步骤

- 第一次使用前请在 Buffer RW2 瓶和 70%乙醇瓶加入指定量无水乙醇，充分混匀，加入后请及时在方框内打钩标记，以免重复加入！
 - 加入 Buffer TLS 后，加氯仿前，样品可在-70℃保存一个月以上。
1. 每 0.25 ml 血液中加入 0.75 ml Buffer TLS，用移液器吸打数次以混匀并裂解血细胞（Buffer TLS 和血液体积比是 3: 1）。
 2. 将样品剧烈振荡混匀，室温（15-30℃）孵育 5 min，使核酸蛋白复合物完全分离。
 3. 每使用 0.75 ml Buffer TLS 加入 0.2 ml 氯仿，盖好管盖，剧烈振荡 15 s，室温放置 2 min。
 4. 4℃，12,000 rpm 离心 10 min。匀浆会分为三层：下层有机相，中间层和上层无色的水相。RNA 存在于水相中。水相层的体积大约为所加 Buffer TLS 体积的 70%，转移水相到新的离心管中。
 5. 加入等体积 70%乙醇（**请先检查是否已加入无水乙醇!**），颠倒混匀（可能会出现沉淀，不影响后续操作）。得到的溶液和可能出现的沉淀一起转入至 Flying Shark[®] Columns RA 中（吸附柱 RA 放入收集管中）。
 6. 12,000 rpm 离心 1 min，倒掉废液，将吸附柱重新放回收集管内。
 7. 加入 500 μl Buffer RW1，12,000 rpm 离心 30 s，倒掉废液。
-

8. 加入 500 μ l Buffer RW2 (使用前检查是否加入无水乙醇!), 12,000 rpm 离心 30 s, 倒掉废液。
 9. 重复步骤 8。
 10. 将吸附柱 RA 放回空收集管, 12,000 rpm 离心 2 min, 尽量除尽漂洗液, 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 产量向吸附膜的中间部位悬空滴加 30-50 μ l RNase-Free H₂O(提前在 65 $^{\circ}$ C 预热可提高产量), 室温放置 2 min, 12,000 rpm 离心 1 min, 收集 RNA 溶液, -70 $^{\circ}$ C 保存, 以防降解。
- 如果需要较多 RNA, 可将得到的溶液重新加入吸附柱中, 离心 1 min (可提高浓度), 或者再加入 30 μ l RNase-Free H₂O, 离心 1 min, 合并两次洗脱液 (可提高产量但会降低浓度)。
-

RNA 质量鉴定

常规的琼脂糖凝胶电泳和变性胶电泳均可用来分析 RNA 的质量。高质量的 RNA 在电泳后应该可以看到明显的两条优势核糖体 RNA 带，分别为~5 Kb (28S)，~2 Kb (18S)，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。有时候根据某些物种如一些植物组织看到 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 之间不连续的高分子亮带。
