

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

目录号: RHYC04

试剂盒组成

试剂盒组成	保存	RHYC04-01 (50 次)	RHYC04-02 (100 次)
Buffer LS	4℃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 LS 4℃保存（可以常温运输）。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

本试剂盒适合从 250 μ l 新鲜的或者-70 $^{\circ}$ C 冻存六个月以内的全血（血清、血浆、脑脊液等）分离纯化总 RNA（包括所含的病毒 RNA）。改进的异硫氰酸胍/酚试剂可以迅速裂解细胞和灭活细胞 RNA 酶，无需去除红细胞。在含有 RNA 的上清液中补加 70%乙醇后加入核酸纯化柱，总 RNA 结合在核酸纯化柱上，残留的蛋白等抑制物则被过滤除去，RNA 经 RW1 和 RW2 洗涤后，用 RNase free H₂O 洗脱，可直接用于各种分子生物学实验。

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！
 - 尽量使用新鲜血液进行 RNA 提取，以免 RNA 降解影响最终 RNA 回收效率。如果不能及时将新鲜血液进行 RNA 提取，可将全血加入 Buffer LS 后，加氯仿前，样品可在-70 $^{\circ}$ C 保存一个月以上。
1. 每 0.25 ml 血液中加入 0.75 ml Buffer LS, 用移液器吸打数次以混匀并裂解血细胞(Buffer LS 和血液体积比是 3: 1)。
 2. 将样品剧烈振荡混匀，室温（15-30 $^{\circ}$ C）孵育 5 min，使核蛋白复合物完全分离。
 3. 每使用 0.75 ml Buffer LS 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 $^{\circ}$ C，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 LS 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中。
 7. 加入 500 μ l Buffer RW1，12,000 rpm 离心 30 s，倒掉废液。[Blood Total RNA Isolation Kit](#)
 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 μl RNase-Free H_2O (提前在 65°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°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 μl RNase-Free H_2O , 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。
