杭州新景生物试剂开发有限公司
地址：浙江省杭州市西湖科技经济园西园一路 8 号 4 幢 5F
邮编：310030　电话：0571-87381295 传真：0571-87381297

全血总 RNA 试剂盒说明书

产品组成

全血总 RNA 试剂盒 Cat. No.	5 次制备 5201005	50 次制备 5201050
核酸纯化柱	5 个	50 个
2 ml 离心管	5 个	50 个
Buffer L9	6 ml	55 ml
Buffer WA（浓缩液）	1.9 ml	12 ml
Buffer WBR（浓缩液）	1.5 ml	12 ml
RNase-Free Water	1.5 ml	2 ml×2
说明书	1 份	1 份

产品储存

Buffer L9 请置于 2~8℃贮存。

其他物品和试剂如果储存于室温（15~25℃），可在两年内保持使用性能无明显变化；如果将产品储存于 2~8℃，可延长产品的有效期至两年以上。

技术支持

杭州新景生物试剂开发有限公司研发部：e-mail: technical@simgen.cn, 电话：400-0099-857。

产品介绍

本产品适合从 500 μl 新鲜的或者－70℃冻存半年以内的全血或者骨髓中分离纯化总 RNA（包括全血中的病毒 RNA）。本试剂盒采用强烈的裂解液溶解并沉淀去除血红蛋白和基因组 DNA。在含有 RNA 的上清液中补加乙醇后加入核酸纯化柱，RNA 结合在核酸纯化柱上，残留的蛋白与 PCR 抑制物则被过滤除去，RNA 经 Buffer WA 和 Buffer WBR 洗涤后，用 RNase-Free Water 洗脱，即可用于各种分子生物学实验。

用户需自备的试剂与物品

1. 无水乙醇
2. 1.5 ml 离心管（必须选用 RNase-free 的 1.5 ml 离心管）、2 ml 离心管
3. 移液器吸头(为避免 RNA 酶污染，请选用含有滤芯的 RNase-free 移液器吸头)
4. 乳胶手套、一次性口罩等防护用品和纸巾
5. 台式小量离心机（可配离心 1.5 ml 和 2 ml 离心管的转子）
6. 旋涡振荡器
7. 不使用 RNA 酶的实验室

扫二维码观看操作视频

使用前准备

1. 如果离心机有制冷功能，请将温度设置到 25℃。
2. 根据试剂瓶标签上的指示在 Buffer WA 和 Buffer WBR 中加入无水乙醇，并在标签的方框中打勾作好“乙醇已加”的标记。
3. 由于唾液、皮肤上均含有 RNA 酶，请在 RNA 提取的全过程中都戴口罩和乳胶手套。
4. 尽量使用离体 3 小时内的新鲜全血或者骨髓进行 RNA 提取，否则将因为 RNA 的降解而影响最终 RNA 的回收效率。如果不能及时将新鲜的全血进行 RNA 提取，可将全血于－70℃冻存或者用 Buffer L9 溶解后于－20℃冻存。（详见操作步骤 1）

操作步骤：

1. 在 2 ml 离心管（有盖离心管，用户自备）中加入 1 ml Buffer L9，再加入 500 µl 全血或骨髓，旋涡振荡 30 秒混合均匀。

* 如果不能及时将新鲜获得的全血或者骨髓进行RNA提取，可将全血或者骨髓于－70℃冻存。冻存半年内的样品不影响RNA的提取，注意提取RNA之前不要反复冻融样品。

* 若没有－70℃冰箱，可在本步骤将溶解后的全血于－20℃冻存。冻存两个星期内不影响RNA的提取效率。

* Buffer L9具有腐蚀性，请戴防护用品进行操作。

2. 13000 rpm 离心 10 分钟。在一个洁净的 1.5 ml 离心管中加入 500 µl 无水乙醇备用。

3. 吸取 700 µl 离心上清转移到装有无水乙醇的 1.5 ml 离心管中，勿弃吸头，直接用吸头吸注两次混匀。

* 上清中所含的血色素可在洗涤步骤被除去，不影响最终 RNA 的纯化效果。

4. 吸取 600 µl 步骤 3 中的混合液转移到核酸纯化柱（核酸纯化柱置于试剂盒提供的无盖 2 ml 离心管中）中，盖上管盖，12000 rpm 离心 30 秒。

5. 弃 2 ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2 ml 离心管中，将 1.5 ml 离心管中剩余的液体全部倒入核酸纯化柱中，盖上管盖，12000 rpm 离心 30 秒。

* 滤液无须彻底弃尽，如果要避免粘附在离心管管口的滤液对离心机的污染，可将 2 ml 离心管在纸巾上倒扣拍击一次。

6. 弃 2 ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2 ml 离心管中，在核酸纯化柱中加入 500 µl Buffer WA，盖上管盖，12000 rpm 离心 30 秒。

* 确认在 Buffer WA 中已经加入无水乙醇。

7. 弃 2 ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2 ml 离心管中，在核酸纯化柱中加入 700 µl Buffer WBR，盖上管盖，12000 rpm 离心 30 秒。

* 确认在 Buffer WBR 中已经加入无水乙醇。

8. 弃 2 ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2 ml 离心管中，14000 rpm 离心 1 分钟。

* 如果离心机的离心速度达不到 14000 rpm，则用最高速离心 2 分钟。

* 请勿省略该步骤，否则可能因所纯化的核酸中混有乙醇而影响后续的实验效果。

9. 弃 2 ml 离心管，将核酸纯化柱置于一个 RNase-free 的 1.5 ml 离心管中，在纯化柱中加入 50 µl RNase-Free Water，盖上管盖，室温静置 1 分钟，12000 rpm 离心 30 秒。

* 如果离心机没有防泄漏的盖子，请将离心条件改为 8000 rpm 离心 1 分钟，以免管盖脱落而损伤离心机。

10. 弃纯化柱，洗脱的 RNA 可立即用于各种分子生物学实验；或者将 RNA 储存于－70℃备用。

* 即使电泳检测不到基因组 DNA 的条带，也不代表所获得的 RNA 中没有基因组 DNA。如果要彻底去除 DNA 的污染，请用不含 RNA 酶的 DNase I 处理获得的 RNA。

* 如果用于病毒 RNA 检测，适当增加模板的用量可提高检测的敏感性（终体积为 50 µl 的一步法 RT-PCR 反应体系中加入 25 µl 洗脱的 RNA 作为模板，未见明显的抑制效果）。