

血液 RNA 提取试剂盒（配套血液 RNA 保存剂）说明书

产品组成

血液 RNA 提取试剂盒（配套血液 RNA 保存剂）	50 次制备
Cat. No.	5212050
核酸纯化柱	50 个
2 ml 离心管	50 个
Buffer WA（浓缩液）	12 ml
Buffer WBR（浓缩液）	12 ml
RNase-free Water	2 ml×2
说明书	1 份

产品储存

产品储存于常温（0~30℃），可在两年内保持使用性能无明显变化。

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 1.5 ml 使用 Simgen 血液 RNA 保护剂保存的全血或者骨髓中分离纯化总 RNA（包括全血中的病毒 RNA）。经血液 RNA 保护剂保存的样本离心沉淀去除血红蛋白和基因组 DNA，上清液中的 RNA 补加乙醇后结合到核酸纯化柱上，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. 移液器及吸头（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

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做好“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。

操作步骤：

1. 将吸头尖端剪掉，从血液 RNA 保护剂保存的全血或者骨髓样本中吸取 1.5 ml 悬浊液，转移到自备的 2 ml 离心管中，13000 rpm 离心 5 分钟。
2. 在一个洁净的 1.5 ml 离心管中加入 500 μ l 无水乙醇备用。
3. 吸取 700 μ l 步骤 1 中的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 μ l 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 2 ml 离心管中），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 μ l 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。

* 加入 Buffer WA 后室温静置 3~5 分钟后再离心，可提升杂质的去除效果。

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 μ l 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，在纯化柱的膜中央加入 50 μ l 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°C 以下备用。

* 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 μ l 的一步法 RT-PCR 反应体系中加入 25 μ l 洗脱的 RNA 作为模板，未见明显的抑制效果）。