

血 RNA 小量提取试剂盒

本试剂盒适用于从新鲜全血（使用各种抗凝剂处理过的全血）中提取总 RNA。本试剂盒无需酚、氯仿等有毒试剂，具有安全、高效、稳定的特点。试剂盒内所有试剂与耗材均无 RNase 活性，提取得到的 RNA 分子完整、纯度高，适用于各种后续分子生物学实验，如：RT-PCR、体外翻译、Northern Blotting、构建文库等。

一、试剂盒组成与保存

Cat.	EK02804	EK02805	EK02825
制备次数	4 tests	50 tests	250 tests
RNA column	4	50	250
2.0ml collection tube	8	100	500
1.5ml collection tube	4	50	250
RNA lysis buffer	14 ml	180 ml	450 ml×2
RNA buffer I	2 ml	24 ml	120 ml
RNA buffer II	1 ml	12 ml	60 ml
Wash buffer A2	2.4 ml	24 ml	120 ml
Wash buffer B	2.4 ml	24 ml	72 ml×2
Buffer TE(RNase-free)	1 ml	6 ml	30 ml

本试剂盒可以在室温条件下运输和保存。

二、注意事项与实验前准备

1. 部分试剂中含有刺激性物质，操作时需要佩戴手套，并避免直接接触皮肤，若有不慎沾染到皮肤或是眼睛时，需要立即使用大量清水冲洗，必要时就医。
2. 本试剂盒为全血 RNA 小量提取试剂盒，血液用量为 200-400 μ l。
3. 第一次使用前，请先在 Wash buffer A2 与 Wash buffer B 中按照试剂瓶上指定的体积加入无水乙醇。
4. 本试剂盒所有试剂与耗材都是经过处理，无 RNase 污染，因此请使用无 RNase 污染的枪头取用试剂，以防 RNase 污染。

三、实验步骤

1. 取 200-400 μ l 抗凝全血，加入 1-2ml 的 RNA lysis buffer，温和混匀；
注：加入的 RNA lysis buffer 的量根据取用血的量按比例调整，如取用 300 μ l 血，需加 1.5ml RNA lysis buffer。
2. 冰浴 10-15min，期间温和混匀 2 次，3000g 4 $^{\circ}$ C 离心 5min；
3. 尽可能的吸弃上清；
4. 加入 0.5ml（血样体积 200 μ l）-1ml（血样体积 400 μ l）RNA lysis buffer，温和混匀，冰浴 5min；

注：血样体积在 200 μ l -400 μ l 之间时，按比例调整加入 RNA lysis buffer 的量。

5. 3000g 4 $^{\circ}$ C 离心 5min，尽可能吸弃上清；
6. 加入 400 μ l RNA buffer I，用移液器抽吸几次，混合混匀；
7. 加入 200 μ l RNA buffer II，漩涡振荡 1min，12000g 离心 10min；
8. 取上清至 2ml collection tube（试剂盒内提供）中，加入 250 μ l 异丙醇，混匀；
9. 将 RNA column 放入一个新的 2ml collection tube（试剂盒内提供），将步骤 8 中混合液转移至 RNA column 中，6000g 离心 1min；
10. 弃滤液，再向 RNA column 中加入 700 μ l Wash buffer A2，12000g 离心 1min；
注：确认 Wash buffer A2 中已加入指定体积的无水乙醇。
11. 弃滤液，再向 RNA column 中加入 700 μ l Wash buffer B，12000g 离心 1min；
注：确认 Wash buffer B 已加入指定体积的无水乙醇。
12. 重复步骤 11 一次；
13. 弃滤液，将 RNA column 放回 2.0ml collection tube，12000g 离心 2min；
14. 将 RNA column 放入一个新的干净的 1.5ml collection tube（试剂盒内提供），在 column 膜中央滴加 50-100 μ l Buffer TE (RNase-free)，室温静置 2min，12000g 离心 1min 洗脱 RNA。