



Blood RNA Kit 血液 RNA 提取试剂盒

产品简介

Blood RNA Kit采用胍盐与硅胶柱结合法，能够快速有效地从血液中提取高质量的RNA。血液加入红细胞裂解液裂解红细胞，收集白细胞，在RNA抑制酶环境下裂解白细胞，使RNA释放出来后可以稳定的吸附在离心柱上，经过四步快速洗涤去除各种盐分和杂质，最后将RNA溶解于DEPC水中从离心柱上洗脱下来。

试剂盒组成

产品编号	R2101	R2105	R2106	R2107
次数	5	50	100	200
纯化柱子	5	50	100	200
Buffer R1 (10X)	10ml	30ml	60ml	120ml
Buffer R2	5ml	55ml	110ml	110ml*5
RNA Wash Buffer I	3ml	33ml	55ml	110ml
RNA Wash Buffer II	2ml	13ml	26ml	26ml*2
DEPC-Water	1ml	13ml	20ml	30ml
说明书	1	1	1	1

储存和稳定性

TRNsol 4℃放置，其他试剂室温保存。试剂盒从购买之日起1年内有效。

预防RNase 污染，应注意以下几方面：

- 经常更换新手套。因为皮肤经常带有细菌，可能导致RNase污染。
- 使用无RNase 的塑料制品和枪头避免交叉污染。
- RNA 在Buffer PR中时不会被RNase 降解。但提取后继续处理过程中应使用不含RNase 的塑料和玻璃器皿。玻璃器皿可在1500C烘烤4 小时，塑料器皿可在0.5 M NaOH 中浸泡10分钟，然后用水彻底清洗，再灭菌，即可去除RNase。
- 配制溶液应使用RNase-free ddH₂O。（将水加入到干净的玻璃瓶中，加入DEPC 至终浓度0.1%(v/v)，混匀后放置过夜，高压灭菌）。

溶液的稀释准备：

- R2101 加8 ml；R2105加入52 ml；R2106与R2107每瓶加入104 ml 无水乙醇
- Buffer R1 (10X) 需按1:9稀释。
- Buffer R2使用前加入β-巯基乙醇，使终浓度为1%，如1ml Buffer R2加入10μl巯基乙醇。

操作步骤

1. **红细胞裂解液稀释：**根据处理的血液样品的体积吸取适量的Buffer R1(10X)，用Rnase-free ddH₂O按1:9稀释。（例如处理单个200μl的血液样品，吸取140μl Buffer R1，加入1260μl RNA-free ddH₂O）。

2. 向1体积的全血中，加入5体积的buffer R1工作液（自备合适的离心管）

3. 冰上放置 10-15 分钟，其间颠倒混匀两次。

注意：在放置过程中，血液会从雾状变成透亮的溶液。透亮的溶液就表明了红细胞已裂解。如必要的话，可延长至 20 分钟。

4. 4℃，2100rpm (~400×g 离心 10 分钟，小心完全吸弃上清液。

5. 向沉淀中加入，起始血液量2倍体积的Buffer R1工作液（如起始血液量为100μl，加入200μl Buffer R1工作液）

6. 4℃，2100rpm (~400×g 离心 10 分钟，小心完全吸弃上清液。

注意：务必将上清完全去除。

7. 向白细胞中加入buffer R2（使用前β-巯基乙醇），小于500μl健康人类全血，加入350μl Buffer R2, 500μl-1.5ml健康人类全血，加入600μl Buffer R2.

注意：加入Buffer R2的量可以根据血液中白细胞的含量进行调整。加入R2后，细胞应完全裂解，无细胞团块。

8. 缓慢加入0.5倍上清体积无水乙醇，混匀（此时可能会出现沉淀）。

9. 取第八步获得混合液700μl加到吸附柱中，12,000 rpm(~13,400×g)离心30-60 sec，弃掉收集管中的废液，将吸附柱放回收集管中。

注意：如果混合液体积过大，可以分两次过柱。

10. DNA 膜上消化（可选步骤）：取1 μl DNase I 储存液放入新的RNase-Free离心管中，加入20 μl Buffer RDD，轻柔混匀后加到纯化柱膜中央处，室温放置15min。

11. 向吸附柱中加入350 μl Wash Buffer I，12,000 rpm(~13,400×g)离心30-60 sec，弃废液，将吸附柱放回收集管中。

12. 向吸附柱中加入600μl Wash Buffer II（使用前请先检查是否已加入乙醇），12,000 rpm(~13,400×g)离心30-60 sec，弃废液，将吸附柱放回收集管中。

13. 重复步骤12。

14. 12,000 rpm(~13,400×g)离心2 min，倒掉废液。

注意：此步骤目的是将吸附柱中残余的漂洗液去除，漂洗液的残留，可能会影响后续的RT等实验。

15. 将吸附柱CR3转入一个新的RNase-Free离心管中，向吸附膜的中间部位悬空滴加30-100 μl DEPC-water，室温放置2 min，12,000 rpm(~13,400×g) 离心2 min，得到RNA溶液。

注意：洗脱缓冲液体积不应少于30 μl，体积过小影响回收效率。RNA溶液请于-70℃保存。

可能出现的问题与对策

问 题	原 因	建 议
少或无洗脱 RNA	RNA 依然保留在柱子上	·再次洗脱 ·洗脱前把 DEPC 水预热至 70℃ ·离心前把柱子水浴 5min
	柱子过载了	·减少起始原料的量
柱子堵塞 RNA 被降解	没有完全裂解	·加如 TRNsol 后混和均匀 ·延长离心时间 ·减少起始原料的量
	来源有问题	·不要冷冻血液 ·样品保存时间过长, 请用新鲜样品 ·依照方案来做, 并且操作要迅速
	RNA 酶污染	·确保在操作中不要导入 RNA 酶 ·检查各缓冲液是否有 RNA 污染
下游应用中出现了问题	在洗脱的过程中有盐遗留下来	·确保 Wash Buffer II 已经用适量的无水乙醇稀释过 ·乙醇稀释后的 Wash Buffer II 必须在室温下保存 ·再用 Wash Buffer II 洗涤
	有 PCR 抑制剂	·减少起始原料的量 ·转移上清时不要超过上清的 80%
有 DNA 杂质		·用无 RNA 酶的 DNA 酶降解之, 并在 75℃ 下变性 5min
低吸光度比值	用酸性缓冲液或水来洗脱 RNA	·用 TE 缓冲液来代替 DEPC 水进行洗脱或稀释。

可能用到的产品

货号	品名	规格
P3105	Plasmid Maix Kit	10T
P2105	Endo-free Plasmid Mini kit	50T
P6105	Yeast Plasmid Kit	50T
C4105	MiniElute DNA-Pure Kit	50T
P3415	2XPCR Master Mix	1ml
D1105	Blood DNA Kit	50T
D4105	Plant DNA Kit	50T
D7105	Hpure Fugal DNA Kit	50T
D3105	Baterial DNA Kit	50T
D8105	Soil DNA Kit	50T
R1106	TRNsol(TRIzol)	100ml
R4105	Total RNA Kit II	50T
R5105	Plant RNA Kit	50T
G4210	DH5a 感受态	5*0.2ml
G0668	DEPC-water	100ml
G3420	6X loading buffer	2ml
G3422	DAB 染色液	100ml
G0577	苏木素伊红染色液	50ml*2
G3424	RIPA 裂解液	100ml
P0018	ECL 发光液	100ml
G3418	TMB Solution For Blotting	100ml
G4308	TMB solution For Elisa	100ml
G3005	30%丙烯酰胺 (29:1)	500ml
G3403	40%丙烯酰胺 (37.5:1)	500ml
G0528	4%多聚甲醛	500ml
G3422	BCA 蛋白浓度测定试剂盒	500T
G3155	Bradford 蛋白浓度测定试剂盒	1000T
G4256	10X 丽春红染色液	10ml

广州捷信斯生物科技有限公司

地址: 广州市国际生物岛螺旋四路一号研发B区403

电话: 020-82160415 Email: genebase@vip.163.com WEB: www.gbcbio.cn