

# 操作手册

## RNA 提取试剂盒 (配合 DNA/RNA shield 血液保存管)

Catalog No. TR153-50 (50 次反应)

### Highlights

- 本试剂盒是针对用 DNA/RNA shield™ 血液保存管后续 RNA 提取设计的。
- 无需离心等去除保护剂的步骤即可进行 RNA 的提取。
- 纯化得到的 RNA (含 small/micro RNA) 可应用 高通量测序等实验。

## 产品组成:

试剂盒组成	保存	50 次
RNA 预洗液	室温	50 ml
RNA 洗涤液	室温	24 ml 使用前按说明加指定量乙醇
RNase-free H <sub>2</sub> O	室温	10 ml
DNase I	-20°C	1 管
DNA 消化液	室温	4 ml
蛋白酶 K 套装	-20°C	20 mg
3 号柱 G (绿色)	室温	50 个
收集管 (2ml)	室温	100 个

## 特性:

1. 样品来源: 针对保存在DNA/RNA shield™ 血液保存管中的样品。
2. 样品保存: DNA/RNA保护剂可有效裂解细胞, 灭活病毒和核酸酶活性, 可在常温下运输和保存各种样品。
3. 片段大小: 回收到的RNA≥17 nt。
4. 回收率: 一般RNA的产量在6-30µg(3ml人全血)
5. 所需设备: 台式离心机, 涡旋仪, 真空多连器 (推荐)。

## 试剂制备

**RNA 洗涤液** 在使用之前一定要配好，添加好乙醇后在试剂瓶上做好标记!!!

需要添加 96ml100%的乙醇(或 104ml95%的乙醇)到 24ml 的 **RNA 洗涤液** 中

## **蛋白酶K**

需添加1060μl蛋白酶K保存液到冻干粉的蛋白酶K里，蛋白酶K的终浓度约为20mg/ml，之后放在-20℃保存

## **DNase I**

添加275μl的RNase-free H<sub>2</sub>O到冻干粉状态的DNase I中，DNase I浓度为1U/μl，颠倒混匀后放在-20℃保存

## 操作步骤:

所有离心操作的离心力均在10,000-16,000 x g范围内进行，如无特殊说明离心时间均为30秒。

所有步骤都应该在室温下（20-30℃）下操作如果无特殊说明。

1. 将DNA/RNA Shield™ 血液保存管里的溶液（1.2ml）加到一个离心管内。如果保存管处于冷冻状态，则在室温下解冻保存管。
2. 添加16μl蛋白酶K到保存管内混合并且涡旋振荡。在室温下（20-30℃）孵育30分钟。
3. 添加1.2ml的异丙醇混合并且涡旋振荡。
4. 将3号柱G（绿色）放到真空多联器上。将上述步骤的混合物直接到柱子内（如果液体超过柱子容积需要反复添加），打开真空源，直到所有液体通过3号柱G（绿色）。  
\*如果没有真空多连器，可通过反复填充700μl的混合物到3号柱G（绿色）中离心过柱。  
\*蛋白酶K和异丙醇的用量可根据实际添加的样本量等比例调整。(如：3ml采血管溶液 30μl蛋白酶K 3ml异丙醇)
5. 添加400μl RNA预洗液到柱中，离心。去除滤出液。

柱上DNase I消化处理（推荐）此步骤主要是为了去除痕量的DNA.

a) 添加400μl的RNA洗涤液到柱子上，离心。去除滤出液。

b)对于每一次的样品处理需要制备80μl的DNase I反应液。配比为 DNase I 5μl DNA消化液 75μl

- c)直接添加80μl的DNase I反应液到柱上，在室温下（20-30℃）孵育15分钟。
6. 添加400μl RNA预洗液到柱中离心，去除滤出液。
  7. 添加700μl RNA洗涤液到柱中，离心。去除滤出液。
  8. 添加400μl RNA洗涤液到柱中离心2分钟以完全去除洗涤液的残留，去除滤出液。
  9. 取出柱子，放入一个无RNA酶的离心管中，在吸附膜的中间部位加100μl RNase-free H<sub>2</sub>O，离心RNA。