

# RNA提取试剂盒（D/R S血液保存管）

（使用说明书 Ver.1.1.9）

## 产品说明

- ✧ 本试剂盒是针对用EZshield® 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。

产品货号：

TR152-10（10次反应） TR152-50（50次反应）



扫描二维码了解更多产品信息

# 目录Contents

产品组份	1
注意事项	1
产品特性	1
溶液制备	1
操作步骤	2
组件查询	3

## 产品组份

试剂盒组成	10次	50次	保存
RNA预洗液	10ml	50ml	室温
RNA洗涤液 (未添加乙醇)	5ml	24ml	室温
无DNase /RNase水	2ml	10ml	室温
DNase I (选配)	250U	250U	-20°C
DNA消化液 (选配)	1ml	4ml	室温
蛋白酶K溶液 (20mg/ml) (选配)	1.2ml	6ml	-20°C
3号CG纯化柱(绿)	10个	50个	室温
25ml漏斗	10个	50个	室温
2ml收集管	/	100个	室温

## 注意事项

- ✧ 此产品仅供研究使用，并应由专业人员操作。
- ✧ 试剂盒中包含的一些试剂是刺激物，请带好手套和防护眼镜。
- ✧ 售出后一年内产品可质保，试剂盒已经过大量的常规检测来保证其可操作性。

## 产品特性

- ✧ 样品来源：针对保存在EZshield®血液保存管中的样品。
- ✧ 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。
- ✧ 片段大小：回收到的RNA $\geq$ 17 nt。
- ✧ 回收率：一般RNA的产量在6-30 $\mu$ g(3ml人全血)。
- ✧ 所需设备：台式离心机，涡旋仪，真空多连器（推荐）

## 溶液制备

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的终浓度约为20mg/ml，需要放在-20°C保存。
- ◇ 添加275μl的无DNase /RNase水到冻干粉状态的DNase I中，DNase I浓度为1U/μl，颠倒混匀后放在-20°C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。

若无特殊说明，所有步骤都应该在室温下（20-30°C）下操作。

1. 将EZshield® 血液保存管里的全部溶液（9ml）加到一个50ml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120μl蛋白酶K到保存管内混合并且涡旋振荡。在室温下（20-30°C）孵育30分钟。
3. 添加9ml的异丙醇混合并且涡旋振荡。
4. 将25ml漏斗插入3号CG纯化柱(绿) 并且放到真空多联器上。将上述步骤的混合物直接到漏斗内，打开真空源，直到所有液体通过3号CG纯化柱(绿) 。
- \*如果没有真空多连器，可通过反复填充700μl 的混合物到3号CG纯化柱(绿) 中离心过纯化柱。  
\*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预洗液到纯化柱中，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洗涤液到纯化柱上，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反应液到纯化柱上，在室温下（20-30°C）孵育15分钟。
6. 添加400μl RNA预洗液到纯化柱中离心，去除滤出液。
7. 添加700μl RNA洗涤液到纯化柱中，离心。去除滤出液。
8. 添加400μl RNA洗涤液到纯化柱中离心2分钟以完全去除洗涤液的残留，去除滤出液。
9. 取出纯化柱，放入一个无RNA酶的离心管中，在吸附膜的中间部位加100μl 无DNase /RNase水，离心RNA。

## 组件查询

组件名称	货号	规格	保存
RNA预洗液	TR1060-2-10	10ml	室温
	TR1060-2-50	50ml	
RNA洗涤液 (未添加乙醇)	TR1003-3-5	5ml	室温
	TR1003-3-24	24ml	
无DNase /RNase水	TW1001-2	2ml	室温
	TW1001-10	10ml	
DNase I (选配)	TE1009-A	250U	-20°C
DNA消化液 (选配)	TE1010-1-1	1ml	室温
	TE1010-1-4	4ml	
蛋白酶K溶液 (20mg/ml)	TD3001-2-1.2	1.2ml	-20°C
	TD3001-2-6	6ml	
3号CG纯化柱(绿)	TC1006-10-G	10个	室温
	TC1006-50-G	50个	
25ml漏斗	TC1039-10	10个	室温
	TC1039-25	25个	
2ml收集管	TC1001-50	50个	室温