

UE 血 RNA 小量制备试剂盒

本试剂盒用于从全血中提取 RNA。提取的 RNA 分子完整、纯度高，适用于 Northern Blot、RT-PCR、体外翻译、Primer Extension、RNase 保护测定、构建 cDNA 文库等各种分子生物学实验。

一、试剂盒组成、贮存、稳定性

| Cat.No. | UE -MN-BL-RNA-50 | UE-MN-BL-RNA-250 |
|-------------------------------|------------------|------------------|
| Kit size | 50 preps | 250 preps |
| Spin/vac mini column | 50 | 250 |
| 2 ml Microfuge tube | 100 | 500 |
| 1.5 ml Microfuge tube | 50 | 250 |
| Buffer RL | 180 ml | 2×450 ml |
| Buffer R-I | 24 ml | 120 ml |
| Buffer R-II | 12 ml | 60 ml |
| Buffer W1A concentrate | 24 ml | 120 ml |
| Buffer W2 concentrate | 24 ml | 2×72 ml |
| Buffer TE (DNase &RNase-free) | 6 ml | 30 ml |
| Protocol manual | 1 | 1 |

Buffer RL: 红细胞裂解液。室温密闭贮存。

Buffer R-I: 细胞裂解液。室温密闭贮存。

Buffer R-II: 中和液。室温密闭贮存。

Buffer W1A concentrate: 洗涤液。使用前，按试剂瓶上指定的体积加入无水乙醇（可用无水乙醇或 95% 乙醇），混合均匀，室温密闭贮存。

Buffer W2 concentrate: 去盐液。使用前，按试剂瓶上指定的体积加入无水乙醇（可用无水乙醇或 95% 乙醇），混合均匀，室温密闭贮存。

Buffer TE (DNase &RNase-free) : 洗脱液。10 mM Tris-HCl, 0.1 mM EDTA, pH 7.5, 室温密闭贮存。

二、注意事项

1. 本试剂盒适合从 200-400 μ l 全血中提取 RNA。若从 200 μ l 样品中提取 RNA，需加入 1 ml Buffer RL，则可选用 2 ml 离心管。实验前请根据加入样品及 Buffer RL 体积选择适合的离心管，加入样品和 Buffer RL 的总体积不能超过离心管体积的 3/4。
2. Buffer R-I 和 Buffer W1A 含刺激性化合物，操作时要戴乳胶手套和眼镜，避免沾染皮肤、眼睛衣服，谨防吸入口鼻。若沾染皮肤、眼睛时，要立即用大量清水或生理盐水冲洗，必要时寻求医疗咨询。

三、实验准备

1. 第一次使用时，在 Buffer W1A concentrate 和 Buffer W2 concentrate 中按试剂瓶上指定体积加入无水乙醇或 95% 乙醇。
2. 所有试剂用 DEPC 处理过的溶剂配制。请选用 RNase-free 枪头和离心管，以避免提取过程中 RNA 被 RNase 降解。

四、操作步骤

1. 200-400 μ l 全血加 1-2 ml Buffer RL 在离心管中混匀。
*如果血样的体积在 200-400 μ l 之间，适当调整加入 Buffer RL 的体积。
2. 冰浴 10-15 min。冰浴期间，温和混匀 2 次。3,000 \times g 离心 5 min。
*4 $^{\circ}$ C 条件下离心。
3. 用吸头尽可能丢弃上相。
4. 加 0.5 ml (血样体积 200 μ l) -1 ml (血样体积 400 μ l) Buffer RL，温和混匀，冰浴 5 min。
*如果血样的体积在 200-400 μ l 之间，适当调整加入 Buffer RL 的体积。
5. 3,000 \times g 离心 5 min，丢弃上相。
*4 $^{\circ}$ C 条件下离心。
6. 加 400 μ l Buffer R-I，用吸头抽吸，混合均匀。

7. 加 200 μ l Buffer R-II，旋涡振荡 1 min，12,000 \times g 离心 10 min。
*4 $^{\circ}$ C 条件下离心。
8. 取上清至 2 ml 离心管中 (试剂盒内提供)，加 250 μ l 异丙醇，混合均匀。

步骤 9-13 可选择离心法或负压法

A. 离心法

- 9A. 将制备管置于 2 ml (试剂盒内提供) 离心管中，转移步骤 8 中的混合液到制备管中，6,000 \times g 离心 1 min。
*建议 4 $^{\circ}$ C 条件下离心。
- 10A. 弃滤液，将制备管弃滤液，将制备管置回到 2 ml 离心管中，制备管中加 700 μ l Buffer W1A，12,000 \times g 离心 1 min。
*确认在 Buffer W1A concentrate 中已按试剂瓶上指定的体积加入无水乙醇。
- 11A. 弃滤液，将制备管置回到 2 ml 离心管中，在制备管中加 700 μ l Buffer W2，12,000 \times g 离心 1 min；以同样的方法再用 700 μ l Buffer W2 洗涤一次。
*确认在 Buffer W2 concentrate 中已按试剂瓶上指定的体积加入无水乙醇。
- 12A. 弃滤液，将制备管置回到 2 ml 离心管中，12,000 \times g 离心 1 min。
- 13A. 将制备管放入一洁净的 1.5 ml 离心管 (试剂盒内提供) 中，在制备管膜中央加 60-100 μ l Buffer TE (DNase &RNase-free)。室温静置 1 min，12,000 \times g 离心 1 min，洗脱得 RNA。

B. 负压法

- 9B. 将制备管插到负压装置的插口上，将步骤 8 中的混合液移入制备管中，开启并调节负压至 -20-30 英寸汞柱，吸尽管中溶液。
- 10B. 保持负压，加 700 μ l Buffer W1A，吸尽管中溶液。
*确认在 Buffer W1A concentrate 中已按试剂瓶上指定的体积加入无水乙醇。
- 11B. 保持负压，沿管壁四周加 700 μ l Buffer W2，吸尽管中溶液；以同样方法再用 700 μ l Buffer W2 洗涤一次。
*确认在 Buffer W2 concentrate 中已按试剂瓶上指定的体积加入无水乙醇。
- 12B. 将制备管置于一个 2 ml 离心管 (试剂盒内提供) 中，12,000 \times g 离心 1 min。
- 13B. 将制备管放入一干净的 1.5 ml 离心管 (试剂盒内提供) 中，在制备管膜中央加 60-100 μ l Buffer TE (DNase&RNase-free)。室温静置 1 min,12,000 \times g 离心 1 min，洗脱得 RNA。

五、流程图

