

伯优®冰冻血液样本RNA提取试剂盒(离心柱法) 使用说明书

产品货号:72411-50

Ver 25.04

【产品介绍】

本产品适用于从新鲜血液或冰冻血液样本中分离纯化包含miRNA的总RNA, 操作简单快捷, 核酸纯度高, 得到的RNA可直接用于定量PCR及二代测序等常规实验。

【产品组分】

72411-50 (50 rxns)	产品组分	组分货号	规格	数量
72411-50	BioU-Zol裂解液	NR-23-010	50 mL	1
	洗液H2	NR-23-009	20 mL	1
	无酶水	NR-23-005	6 mL	1
	离心柱	NR-23-008	50 个	1

【储存条件】

试剂盒开封前, 2~8℃保存。

试剂盒开封后, 各组分储存条件如下:

组分	储存条件
BioU-Zol裂解液	2~8℃, 避光保存
洗液H2	室温保存
无酶水	室温保存
离心柱	室温保存

【有效期】

12个月

【注意事项】

1. 本产品适用于提取血液样本的RNA, 推荐使用EDTA抗凝管采血, 并将样本暂时储存于4℃冰箱。采血后需在4小时内进行RNA提取, 超过4小时可能会出现RNA降解。
2. 本产品亦可提取冰冻血液样本的RNA, 采血后将全血混匀, 分装500 μL/支至2.0 mL冻存管中, 储存于-80℃冰箱; 或者用BioU-Zol裂解液裂解后, 储存于-20℃或-80℃冰箱。未提前分装的冰冻血液样本在融化过程中会发生RNA降解。
3. 洗液H2: 第一次使用前请按照试剂瓶标签的说明在洗液中加入无水乙醇并做好标记。

【实验所需材料(未包含)】

试剂: 氯仿、无水乙醇、DNase I (可选)



仪器:低温离心机、普通离心机
耗材:1.5 mL离心管、2 mL离心管

【实验前准备】

- 1.确认洗液H2中已加入80 mL无水乙醇。
- 2.冰上预冷氯仿。
- 3.低温离心机预冷至4℃。

【实验流程】

● 样本处理

A.新鲜血液

- ① 混匀全血样本。
- ② 吸取500 μ L混匀的全血样本至2.0 mL离心管中,加入1 mL BioU-Zol裂解液,振荡混匀,室温静置15分钟。

B.冰冻血液(500 μ L/支,未加裂解液)

- ① 从-80℃冰箱中取出分装好的冰冻血液样本并置于冰上。
- ② (冰上操作)在冰冻血液中加入1 mL BioU-Zol裂解液,振荡至冰冻血液完全融化于裂解液中,冰上静置30分钟。

注:冰冻血液样本-80℃冰箱出后,需尽快加入BioU-Zol裂解液,不要等待样本融化,以防RNA在样本融化过程中降解。

C.冰冻血液(500 μ L/支,已加1 mL裂解液)

- ① 从-80℃冰箱中取出已经裂解好的冰冻血液样本。
- ② 置于冰上直至管内样本完全融化。

● RNA提取

- ① 加入200 μ L冰上预冷的氯仿,振荡混匀。将离心管放入低温离心机中,4℃ 16,000 $\times$ g离心15 min。
- ② 小心吸取900 μ L上层水相至新的2 mL离心管中,注意不要吸到蛋白层和有机层。
- ③ 加入900 μ L 无水乙醇,振荡混匀。
- ④ 吸取700 μ L上述混合液至离心柱中,10,000 $\times$ g离心1分钟。弃滤液。
- ⑤ 重复步骤4两次。
- ⑥ 离心柱中加入500 μ L 洗液H2, 10,000 $\times$ g离心1分钟。弃滤液。
- ⑦ (可选)若DNA残留对后续实验影响较大,可将适量DNase I加在滤膜上,室温消化10-15分钟。离心柱中加入500 μ L 洗液H2, 10,000 $\times$ g离心1分钟。弃滤液。
- ⑧ 离心柱中加入500 μ L 洗液H2, 10,000 $\times$ g离心1分钟。弃滤液。
- ⑨ 最高速离心空柱3分钟。
- ⑩ 将吸附柱转移至新的1.5 mL离心管中,加入50~100 μ L无酶水,室温静置2分钟。
- ⑪ 最高速离心1分钟,弃离心柱。
- ⑫ 提取的RNA可直接用于下游实验,或于-20℃保存一周。如需长期保存,需存放于-80℃冰箱。

