

版本号: FRI1109

FineProtect Blood RNA Kit

FineProtect 血液 RNA 提取试剂盒

(离心柱型)

目录号: FR103

产品内容:

Contents	FR103 (50 preps)
DNase I (2,000 U)	1 瓶
DNase I Buffer	4 ml
RNase Free ddH ₂ O (管装)	1 ml
Proteinase K	2×22 mg
Protease Dissolve Buffer	2×1.5 ml
RNAprotect Reagent	60 ml
Buffer BR	30 ml
Buffer RLT	25 ml
Buffer RW	40 ml
Buffer RW2	12 ml
RNase Free ddH ₂ O	15 ml
RNAPure Spin Columns	50 个
FinePure Filtration Columns	50 个
2 ml Collection Tubes	2×50 个
1.5 ml RNase Free Microcentrifuge Tubes	50 个

储存条件:

本试剂盒中的 DNase I 组分采用冰袋运输,收到后立即将 DNase I 置于 2-8°C 保存,其他试剂室温(15-25°C)保存。

本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。

产品简介：

本试剂盒中RNAprotect血液样本RNA保存液（RNAprotect Reagent）是一种液态的、无毒的血液保存试剂。它能立即稳定新鲜血液中的 RNA，含有该试剂的健康人全血样品可在 2-8°C 保存 5 天，或在 -20°C 或 -70°C 条件下至少保存三个月；含有该试剂的哺乳动物血液样品可在 15-25°C 保存 2 天，2-8°C 保存 7 天，或在 -20°C 或 -70°C 条件下至少保存六个月，RNA 不会出现明显降解。

本试剂盒采用玻璃纤维素离心柱纯化方式，具有高效、快速、方便的特点，提取过程中也无需苯酚氯仿抽提等步骤，适合从新鲜全血中提取总 RNA。利用该试剂盒提取的 RNA 纯度高，极少含蛋白质、基因组 DNA 和其它杂质的污染。提取得到的 RNA 可以直接用于 Northern 杂交、斑点杂交、mRNA 纯化、体外翻译、RNA 分解酶的保护分析、RT-PCR、Real Time RT-PCR、构建 cDNA 文库等各种分子生物学实验。

注意事项：

请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项。

1. 尽可能使用新鲜收集的样品，RNA 产量与起始样品中 RNA 的完整性有关，按照说明书标准流程降解为小片段的 RNA 不能被有效回收。
2. 第一次使用前应在漂洗液 RW2 中加入无水乙醇，加入量请参见瓶上标签。
3. 如需提取包含 Small RNA (<200 nt) 的 RNA，可以联系 GENFINE 获得相应的提取流程。

Proteinase K 溶液配制：

加入 1.1 ml Protease Dissolve Buffer 溶解 Proteinase K 至终浓度为 20 mg/ml，轻轻颠倒使 Proteinase K 充分溶解。溶解后的 Proteinase K 溶液需保存于 -20°C。

DNase I 母液的配制：

先用 1 ml 注射器吸取 550 µl RNase Free ddH₂O，然后打进装有 DNase I 干粉（2,000 U）的玻璃瓶中，轻柔混匀，分装后 -20°C 贮存（可保存 9 个月）。（如果需要另外购买 DNase I，目录号：RA102-01）。

注意：从 -20°C 融化后的 DNase I 母液保存于 4°C（可保存 6 周），不要再次冻存。

操作步骤:

使用前请先在 Buffer RW2 中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶上的标签。

I 血液样品保存:

- a. 使用前请确定RNAprotect Reagent储存于室温。取新鲜抗凝血液按1:3的比例加入RNAprotect Reagent。

注意：保存血液样品时，请立即在新鲜抗凝血液中加入3倍体积的RNAprotect Reagent。如需处理更大量的血液样本，请选择合适规格的耗材进行操作。

- b. 立即盖上管盖，上下颠倒混匀8-10次。含有RNAprotect Reagent的人血液样品可在2-8℃保存5天，或在-20℃条件下至少保存6个月；含有RNAprotect Reagent的哺乳动物血液样品可在15-25℃保存2天，2-8℃保存7天，或在-20℃条件下至少保存12个月。

注意：含有RNAprotect Reagent的血液样品必须在室温放置2 h以上，以使血液样品充分裂解。该步骤可在低温保存样本前或完成保存之后进行。

II 血液样品RNA纯化(100 µl-2.5 ml):

1. 纯化保存于血液RNA稳定剂的血液样品（室温放置2 h以上）时，请先将样品室温放置或37℃水浴使其升至室温。然后3,000-5,000 g离心10 min，用移液器吸弃上清液，取沉淀进行以下操作。

2. 向沉淀中加入4 ml RNase Free ddH₂O，用移液器吹打使沉淀完全溶解。

3. 3,000-5,000 g离心10 min。用移液器吸弃上清液。

注意：请将上清去除彻底，否则会影响到RNA与吸附柱的结合。

4. 缓慢加入350 µl Buffer BR，用移液器反复吹打使沉淀溶解完全。

注意：该步骤沉淀较难溶解，请吹打至沉淀完全溶解，否则会降低RNA得率。

5. 向溶解后的样品中加入300 µl Buffer RLT，然后加入40 µl Proteinase K溶液，充分颠倒混匀，55℃孵育10 min，其间颠倒混匀2-3次，溶液应变清亮。

注意：请不要预先将Buffer RLT和Proteinase K溶液混合。如孵育后溶液未彻底变清亮，请延长孵育时间至溶液清亮为止。

6. 将过滤柱FinePure Filtration Column放入收集管中，然后将上一步所有溶液用移液器转移到过滤柱中，12,000 rpm离心3 min，小心吸取收集管中的滤液至新的1.5 ml RNase Free离心管中，吸头尽量避免接触收集管中的细胞碎片沉淀。

7. 缓慢加入350 µl无水乙醇，混匀（此时可能会出现沉淀），将得到的溶液和沉淀一起转

-
- 入吸附柱 RNAPure Spin Columns (吸附柱放在收集管中), 12,000 rpm离心 30 sec, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱放回收集管中。
8. 向吸附柱中加入350 μ l Buffer RW, 12,000 rpm离心 30 sec, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱放回收集管中。
 9. DNase I 工作液的配制: 取10 μ l DNase I 母液放入新的RNase Free离心管中, 加入70 μ l DNase I Buffer, 轻柔混匀。(DNase I母液的配制: 将DNase I干粉 (2,000 U) 溶解在550 μ l RNase Free ddH₂O中, 轻柔混匀, 分装后-20 $^{\circ}$ C贮存 (可保存9个月。))
注意: 解冻后的DNase I储存液保存于4 $^{\circ}$ C (可保存6周), 避免反复冻融。
 10. 向吸附柱中央加入80 μ l的DNase I 工作液, 室温放置15 min。
 11. 向吸附柱中加入 350 μ l Buffer RW, 12,000 rpm 离心 30 sec, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱放回收集管中。
 12. 向吸附柱中加入 500 μ l Buffer RW2 (使用前请先检查是否已加入乙醇), 12,000 rpm 离心 30 sec, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱放回收集管中。
 13. 重复步骤12。
 14. 12,000 rpm 离心 3 min, 将吸附柱放入一个新的 1.5 ml RNase Free离心管中, 向吸附膜中央加入30-100 μ l RNase Free ddH₂O, 室温放置1 min, 12,000 rpm 离心 1 min, 得到 RNA 溶液。