

# 伯优®全血总RNA提取试剂盒(磁珠法)

产品货号:72602-50

Ver 26.05

## 【产品介绍】

本产品适用于从新鲜或冷冻全血样本中分离纯化总RNA,其操作流程中包含DNase I消化步骤,可有效去除DNA残留,具有操作简便、快捷的特点,所得核酸纯度高。提取获得的RNA可直接用于定量PCR及二代测序等常规分子生物学实验。本产品既适用于手动操作,也可适配高通量自动化仪器使用。

## 【产品组分】

72602-50 (50 rxns)	组分	组分货号	规格	数量
72602-50	磁珠H2	NR-23-018	1 mL	1
	BioU-Zol裂解液	NR-23-010	50 mL	1
	结合液NC	NR-25-003	12 mL	1
	结合液MB	NR-25-004	30 mL	1
	洗液H2	NR-23-009	20 mL	1
	无酶水	NR-23-015	15 mL	1

## 【储存条件】

2~8°C储存,冰袋运输

## 【保质期】

12个月

## 【注意事项】

1. 血液采集推荐使用EDTA抗凝管。
2. 采血后,轻轻颠倒混匀,可暂存于4°C冰箱,并应在4小时内完成RNA提取。或分装至2.0mL冻存管中,每管100~500 $\mu$ L,置于-80°C冰箱保存,亦可加入1mL BioU-Zol裂解液使样本充分裂解后,置于-20°C冰箱保存。
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

仪器:低温离心机、普通离心机

耗材:1.5 mL离心管、2.0 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. 预冷氯仿。
3. 低温离心机预冷至4°C。



## 【实验流程】

### ● 样本处理

#### A. 新鲜血液

1. 混匀全血样本。
2. 吸取100~500  $\mu\text{L}$ 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 (100~500 $\mu\text{L}$ /支, 未加裂解液)

1. 从-80°C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: 不要等待冰冻血液样本融化, 需尽快在样本中加入BioU-Zol裂解液, 以防RNA在血液样本融化过程中降解。

#### C. 冰冻血液 (100~500 $\mu\text{L}$ /支, 已加1 ml裂解液)

1. 从-80°C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  $\mu\text{L}$ 预冷的氯仿，振荡混匀。将离心管放入低温离心机中，4°C 16,000  $\times$  g离心15分钟。
2. 小心吸取400  $\mu\text{L}$ 上层水相至新的1.5 mL离心管中，注意不要吸到蛋白层和有机层。
3. 加入200  $\mu\text{L}$  结合液NC、200  $\mu\text{L}$ 无水乙醇和10  $\mu\text{L}$ 磁珠H2，振荡混匀，室温孵育10分钟。
4. 将离心管置于磁力架上，静置5分钟，待溶液澄清后，小心移除上清。
5. 加入500  $\mu\text{L}$  洗液H2，振荡混匀。将离心管置于磁力架上，静置1分钟，待溶液澄清后，小心移除上清。
6. 瞬时离心磁珠，将离心管置于磁力架上，小心吸尽上清。
7. 加入52  $\mu\text{L}$  无酶水，振荡混匀。室温静置5分钟。
8. 将离心管置于磁力架上，静置3分钟，待溶液澄清后，吸取50  $\mu\text{L}$ 上清液至新的1.5 mL离心管中。
9. 在上一步上清液中加入50  $\mu\text{L}$  DNase I消化液，振荡混匀，室温孵育15分钟。
10. 加入500  $\mu\text{L}$  结合液MB和10  $\mu\text{L}$ 磁珠H2，振荡混匀，室温孵育10分钟。
11. 将离心管置于磁力架上，静置5分钟，待溶液澄清后，小心移除上清。
12. 加入500  $\mu\text{L}$  洗液H2，振荡混匀。将离心管置于磁力架上，静置1分钟，待溶液澄清后，小心移除上清。
13. 重复步骤12一次。
14. 瞬时离心磁珠，将离心管置于磁力架上，小心吸尽上清。
15. 离心管开盖5分钟，空气干燥磁珠。
16. 加入25~100  $\mu\text{L}$  无酶水，振荡混匀。室温静置5分钟。
17. 将离心管置于磁力架上，静置3分钟，待溶液澄清后，吸取上清液至新的1.5 mL离心管中。
18. 提取的Total RNA可直接用于下游实验，或于-20°C保存一周。如需长期保存，需存放于-80°C冰箱。

