

SafPure Blood RNA Kit B

血液 RNA 保存和提取试剂盒

本产品适合于从各种液体生物样品中提取高纯度总 RNA。试剂盒结合了两种高效的 RNA 抽提技术，将一步法的 RNA 抽提技术和硅胶柱 RNA 纯化技术结合起来，可最大程度提高 RNA 的纯度。得到的 RNA 可直接用于 RT-PCR、Northern Blot、poly A+ 纯化、核酸保护和体外翻译等实验。

产品组份

产品编号	R4164-01B	R4164-02B	R4164-03B
纯化次数	10 次	50 次	250 次
HiPure RNA Midi Columns I	10	50	5x50
1.5ml Collection Tubes	20	2 x 50	10 x 50
MagZol 3BD	85 ml	420 ml	4 x 550 ml
Buffer BCP2	10 ml	40 ml	210 ml
DNase I	600ul	3 x 600ul	15 x 600ul
DNase Buffer	5 ml	20 ml	100 ml
Buffer RW1	50 ml	250 ml	2 x 550 ml
Buffer RW2*	10 ml	50 ml	5x50 ml
RNase Free Water	10 ml	20 ml	60 ml
说明书	1	1	1

版本号：2023-06

保存条件

本产品除 DNase I、Magzol 3BD 和 Buffer BCP2 外，其它组份可在室温保存 18 个月。Magzol 3BD 和 Buffer BCP2 室温运输，收到产品后保存于 2~8℃，DNase I 保存于 -20℃。

实验步骤

该方案适合于从 5.0ml 新鲜的血液样品中提取高纯度的总 RNA。该方案也适合部分哺乳类动物的血液总 RNA 的抽取。

需要准备材料和工具

- 无水乙醇(96-100%)
 - 按瓶子标签所示，加入适量的无水乙醇稀释 Buffer RW2，并于室温保存。
1. 在 15ml 离心管中，加入 7ml MagZol 3BD，然后加入 5ml 抗凝血、白膜层、血清、血浆或其它液体样品，立即用力上下剧烈振荡混匀 15 秒，涡旋混匀 15 秒，60°C 水浴 10 分钟。
 - 全血采集到含 EDTA 的抗凝的真空采血管中，并尽快转移至含有 Magzol 3BD 的离心管中，充分混匀对 RNA 产量很关键。
 - **低温保存血液 1:** 转移 3ml 血液至 15ml 离心管中，并在-70°C 下储存。提取 RNA 时，在不解冻情况下，在冷冻血液中加入 3.6ml MagZol 3BD 颠倒或摇动直至样品完全解冻。不要在没有试剂的情况下解冻血液样本，这将导致 RNA 降解。
 - **低温保存血液 2:** 转移 3ml 血液至 15ml 离心管中，然后加入 3.6ml MagZol 3BD，快速上下振荡 10-15 次，涡旋混匀 15 秒，60°C 水浴 10 分钟。该裂解物可以在-70°C 下储存至少 2 年，在-20°C 下至少 6 个月，在 2~8°C 下至少 10 天，室温至少 5 天以上。
 2. 加入 700ul Buffer BCP2，用手上下剧烈振荡混匀 15 秒。室温下，4,000~5,000 x g 离心 10 分钟。
 3. 转移 5ml 上清液至新的离心管中，加入 1.8ml 异丙醇，颠倒混匀 3-5 次。
 4. 把 HiPure RNA Midi Column I 装在 15ml 收集管中。转移一半体积的混合液至柱子中。4,000 x g 离心 2 分钟。
 5. 倒弃滤液把柱子装回收集中，转移余下的混合液至柱子中。2,000 x g 离心 2 分钟。
 6. 倒弃滤液把柱子装回收集中。加入 1ml Buffer RW1 至柱子中。2,000 x g 离心

10 分钟。

7. 配制 DNase Mixture: 300ul DNase Buffer + 30ul DNase I, 吸打混匀 3 次。转移至柱子的膜中央, 室温放置 15 分钟。
8. 加入 3ml Buffer RW1 至柱子中, 2,000 × g 离心 2 分钟。
9. 倒弃滤液把柱子装回收集管中。加入 4ml Buffer RW2(已用乙醇稀释)至柱子中。4,000 × g 离心 10 分钟。
Buffer RW2 在使用之前, 必须按说明书或瓶子标签所示用无水乙醇进行稀释。
10. 将柱子转移至 15ml 离心管中。加入 100ul RNase Free Water 至柱子的膜中央。室温静置 2 分钟。4,000 × g 离心 3 分钟。
当离心速度在 4,000-5,000 × g, 100ul 洗脱时可以得到~50ul 洗脱产物。提取离心速度至 8000 × g, , 100ul 洗脱时可以得到~80ul 洗脱产物。
11. 再加入 50ul RNase Free Water 至柱子的膜中央。室温静置 2 分钟。4,000 × g 离心 3 分钟。弃 RNA 柱子, 把 RNA 样品保存-80°C。

常见问题回答

该列表可能有利于解决您在提取过程中所碰到的问题。Magen 的技术人员也可以随时为您提供咨询服务，若您对试剂盒存在疑问或有良好的建议，又或者您在分子生物学实验中碰到问题，都请您联系我们。我们将竭尽所能为您排忧解难。

现象	原因及解决方法
离心后分层现象不明显	
没有加入 BCP2	确保加入 BCP2，BCP2 不要含有异戊醇或其它添加成分。
加入 Buffer BCP2 后混匀效果不好	加入 Buffer BCP2 后，一定要用手剧烈振荡混匀 15 秒。缓慢颠倒或涡旋会导致分层不明显或杂质的污染。如果离心后分层不明显，再剧烈混匀 15 秒后离心。
样品中含有有机溶剂	若样品含有有机溶剂如 DMSO，乙醇，强碱试剂，会影响分层。
RNA 产量低	
RNA 的洗脱效率低	RNase Free Water 没有加到膜上，或洗脱体积不够。再加入 30-50 μ l RNase Free Water 到膜上，室温静置 2 分钟，然后离心洗脱 RNA。
Buffer RW2 没有加入乙醇稀释	使用前，Buffer RW2 必须加入无水乙醇进行稀释
DNA 污染	
没有进行 DNase I 消化	不要省略 DNASE I 膜上消化步骤，确保 DNase I 消化液全部加到膜中央。
Buffer BCP2 抽提振荡不够	加入 Buffer BCP2 后，盖紧盖子。然后用手剧烈上下振荡 15 秒。不要用涡旋或颠倒混匀。
下游实验结果不理想	
盐分污染	加入 Buffer RW2 后，静置 5 分钟后，再离心。
乙醇污染	确保第 9 步离心速度高于 3,000xg，离心时间为 10 分钟。
OD260/OD230 比值不正常	
增加多一次 Buffer RW2 洗涤	增加多一次 Buffer RW2 洗涤