

TRNpure LS Blood RNA Kit

TRNpure LS 血液（液体样本）总 RNA 提取试剂盒

目录号：RNE04

试剂盒组成

Component	RNE04 (50 preps)
Buffer LS	50 ml
Buffer RW1	40 ml
Buffer RW2 (concentrate)	13 ml (使用前按瓶上标签加入无水乙醇)
RNase-free H ₂ O	10 ml
Spin Columns RA with Collection Tubes	50

保存方法

Buffer LS 可室温稳定保存 12 个月，为达到最佳效果，建议收到后置于 2-8℃ 避光保存，其它组分 RT（15-30℃）。

产品介绍

无需去除红细胞，使用改进的异硫氰酸胍/酚一步法迅速裂解细胞和灭活细胞 RNA 酶，用乙醇调节结合条件后，总 RNA 选择性吸附于离心柱内硅基质膜上，再通过一系列快速的漂洗—离心的步骤将细胞代谢物，蛋白等杂质去除，最后低盐的 RNase free H₂O 将纯净 RNA 从硅基质膜上洗脱。提取的 RNA 纯度高，质量稳定可靠，可直接应用于下游 RT-PCR、Northern Blot、Dot Blot 和体外翻译等实验。

实验前准备及重要注意事项

1. 需自备氯仿、无水乙醇、可选 DNase I (RNase Free)，货号 RNE36，需要另外订购。
2. Buffer LS 中含有刺激性化合物，操作时要戴乳胶手套，避免沾染皮肤、眼睛和衣服。若沾染皮肤、眼睛时，要用大量清水或生理盐水冲洗。

- 第一次使用 **Buffer RW2** 前应按照试剂瓶标签的说明加入指定量无水乙醇，加入后请及时打钩标记已加入乙醇，以免多次加入！
- 加入 **Buffer LS** 匀浆后，加氯仿前，样品可在 -80℃ 保存 6 个月。

操作步骤

- 取 **750 µl Buffer LS** 到一个干净的离心管中。
- 按下表加入适量液体样品至 **Buffer LS** 中，用移液器反复吸打 3-5 次，然后剧烈振荡 15 s 充分混匀。

样品类型	样品	RNase-Free H ₂ O	Buffer LS
人类血液样品	250 µl	-	750 µl
淋巴细胞重悬液(<5x10 ⁶)	250 µl	-	750 µl
血液黄层	250 µl	-	750 µl
哺乳动物血液	250 µl	-	750 µl
禽类血液	50 µl	200 µl	750 µl
其它低等动物血液	100 µl	150 µl	750 µl
唾液/分泌液	250 µl	-	750 µl
血清、血浆	250 µl	-	750 µl
其它液体样品	250 µl	-	750 µl

注意：1) 增加血液起始量可以提高 **RNA** 产量，但应按比例增加 **Buffer LS** 使用量，**Buffer LS** 和样本的体积比始终是 3:1。 2) 样本裂解后，如不立即提取，可将裂解物保存在 -20℃（1 个月）或 -80℃（6 个月），待使用时，将其室温溶解后接操作步骤第 3 步进行后续提取。

- 将匀浆样品在室温（15-30℃）放置 5 min，使得核酸蛋白复合物完全分离。
- 加入 **200 µl 氯仿**（每使用 750 µl **Buffer LS**），用手剧烈振荡 15 s，室温放置 3 min。
- 4℃，12,000 rpm 离心 10 min**，样品分为三层：上层为水相层含有 **RNA**，**DNA** 和蛋白位于有机层(下层)和中间层。小心转移上清（约 400-500 µl，可剩余少许，不要吸到中间层）到新的离心管。

以下离心步骤均在室温下进行。

6. 加入 **1.5 倍上清体积**的无水乙醇，涡旋混匀（可能会出现沉淀，不影响后续操作），将得到的溶液和可能产生的沉淀分两次转入已装入收集管的吸附柱(Spin Columns RA)中，12,000 rpm 离心 30 s，弃废液。
7. (可选步骤：彻底去除 DNA)
- 7.1 向吸附柱 RA 中加入 **350 µl Buffer RW1**，12,000 rpm 离心 30 s，弃废液。
- 7.2 按下表配制 DNase I 混合液（DNase I (RNase Free), RNE36, 需要另外订购）：

成分	用量
10×Reaction Buffer	8 µl
DNase I（1 U/µl）	20 µl
RNase-Free H ₂ O	52 µl
Total	80 µl

处理多个样品可按比例放大配制混合液。

- 7.3 向吸附柱硅胶膜上加入 **80 µl DNase I 混合液**，室温（20-30℃）放置 15 min。
- 7.4 向吸附柱 RA 中加入 **350 µl Buffer RW1**，12,000 rpm 离心 30 s，弃废液，将吸附柱重新放回收集管中。
8. 向吸附柱 RA 中加入 **600 µl Buffer RW2**（使用前检查是否加入无水乙醇！），12,000 rpm 离心 30 s，弃废液。
9. 重复步骤 8。
10. 将吸附柱放回空收集管内，12,000 rpm 离心 2 min。
注意：这一步的目的是去除吸附柱中残余乙醇，乙醇残留会影响后续的酶促反应（酶切、PCR 等）。
11. 将吸附柱 RA 放入新的 RNase-free 离心管中，向吸附膜的中间部位悬空滴加 **30-50 µl RNase-Free H₂O**，室温放置 2 min，12,000 rpm 离心 1 min，得到 RNA 溶液，-70℃保存。
注意：RNase-Free H₂O 体积不应少于 **30 µl**，体积过小影响回收效率。如需提高终浓度，可将洗脱的 RNA 溶液再次加入到吸附柱中二次洗脱。

