

超纯外周血白细胞RNA提取试剂盒

产品规格：50次

保存条件：试剂盒于常温运输。长期保存溶液I 2-8℃避光保存，其他组分室温（15-25℃）保存。

包装清单：

序号	产品名称	包装
1	溶液 I(Trizol Reagent)	60 mL
2	溶液 II(洗涤液)	12 mL (用前加 48ml 无水乙醇)
3	溶液 III(RNase-Free Water)	10 mL
4	纯化柱	50 个
5	废液收集管	50 个
6	溶液 IV	120ml
7	说明书	1 份

产品简介：

本试剂盒是基于 TRIzol 改进后的柱式总 RNA 提取试剂盒，裂解液充分裂解并匀质化样本，采用独特的硅基质膜吸附技术，通过离心吸附柱在高盐状态下高效专一的结合溶液中的 RNA，同时最大限度的有效除去蛋白质、无机盐离子及有机杂质等；可从动物组织、植物材料、各种微生物及培养细胞等样品中快速提取总 RNA，每次可处理 30-50 mg 组织或 5×10^6 细胞，可同时处理多个不同样品。本试剂盒提取得到的 RNA 可直接应用于 RT-PCR、Northern Blot、Dot Blot、体外翻译等实验。本试剂盒配备了溶液 IV，用于提取外周血白细胞 RNA 的提取，如不需要可省略此步骤。

实验前准备：

1. 自备试剂：氯仿(新开封或提取 RNA 专用)、无 RNase 水（可本公司购买）配制的 70%乙醇、无水乙醇。
2. 预防酶污染：使用无 RNase 的塑料制品和枪头，避免交叉污染；玻璃器皿应在使用前于 180℃高温下干烤 4 小时，塑料器皿可在 0.5 M NaOH 中浸泡 10 分钟，用水彻底冲洗后高压灭菌；配制溶液应使用无 RNase 的水；操作人员戴一次性口罩和手套，实验过程中要勤换手套。
3. 使用前若发现溶液 I 有沉淀，可置于 56℃水浴几分钟，即可溶解。
4. 第一次使用前应按照试剂瓶标签说明在溶液 II 中加入无水乙醇。
5. 所有离心步骤若无特殊说明均在室温下进行，且所有操作步骤动作要迅速。

使用说明：

1. 样品处理

1a. 植物组织：取新鲜植物组织在液氮中充分研磨或将植物组织剪碎后直接在溶液 I 中迅速研磨，每 30-50 mg 组织加入 1 ml 溶液 I，混匀。

1b. 动物组织：取新鲜或 -70℃冻存的动物组织尽量剪碎，每 30-50 mg 组织加入 1 ml 溶液 I，匀浆仪进行匀浆处理。或在液氮中研磨后加入溶液 I 1 ml 混匀。

1c. 单层培养细胞：吸去培养液，可直接在培养板中加入适量溶液 I（每 10 cm² 面积需要 1 ml 溶液 I），用取样器反复吹打使细胞裂解。也可用胰蛋白酶处理后，将细胞溶液转移至 RNase-Free 的离心管中，300×g 离心 5 min，收集细胞沉淀，仔细吸除所有上清，加入溶

液 I 1 ml 混匀。

1d. 细胞悬液：离心收集细胞。每 5×10^6 - 1×10^7 动物、植物和酵母细胞或每 10^7 细菌细胞加入 1 ml 溶液 I。

1e. 血液处理：直接取新鲜的血液，加入 3 倍体积的溶液 I（推荐 0.25 ml 全血加入 0.75 ml 溶液 I），充分振荡混匀。

1f. 血液白细胞 RNA 提取处理：

1f-1. 取 2ml 收集在肝素或 EDTA 处理过的试管中的全血，放进离心管中。

1f-2. 收集血细胞：3000rpm (400xg) 离心 5 分钟，得到相对清凉的上清液（大约占 30% 的体积）和一大块细胞沉淀物（大约占 60-70% 总体积）。小心从样品顶部吸走上清。要格外小心不要搅动细胞沉淀。注意由于红细胞裂解。血浆可能是红色。

1f-3. 加 2ml 溶液 IV，小心吸放 4-5 次，重悬沉淀物。

1f-4. 收集血细胞：3000rpm (400xg) 离心 5 分钟。3000rpm (400xg) 离心 5 分钟。

注意：在这一步，清晰的沉淀物可能是看不见的。用移液管从顶部移走 2 毫升上清。保留管中剩余的上清液和细胞沉淀。

1f-5. 重复步骤 1f-3，1f-4 两次（共三次）。

注意：因为白细胞占血液体积的大约 1%，细胞沉淀物的大小在红细胞裂解的过程中应该显著减少。在 1f-3 到 1f-5 步的操作中小心防止白细胞丢失。

1f-6. 避开细胞沉淀物，小心吸走几乎所有上清，只保留 100ul 上清液。然后加入溶液 I 1 ml 到细胞中混匀。

1g. 可选步骤：对于蛋白、脂肪、多糖或胞外物质含量高的样品，如肌肉组织、脂肪组织或植物的块茎，可以在匀浆处理后 4°C ，12,000 rpm ($\sim 13,400 \times g$) 离心 10 分钟以除去不溶物质，此时沉淀中含胞外物质、多糖和高分子量的 DNA，而 RNA 存在于上清中。

2. 样品中加入溶液 I 后反复吹打几次，使样本充分裂解。室温放置 5 分钟，使蛋白核酸复合物完全分离。

3. 以每 1 ml 溶液 I 加入 200 μl 氯仿的比例加入氯仿，盖好管盖，剧烈振荡 15 秒，室温放置 2 分钟。

4. 4°C 12,000 rpm ($\sim 13,400 \times g$) 离心 10 分钟，此时样品分为三层：下层有机相，中间层和上层无色水相，RNA 主要在上层水相中，将上层水相移到一个新的 RNase-Free 离心管（自备）中。

5. 在得到的水相溶液中加入等体积的 70% 乙醇（无 RNase 水配制，可联系本公司购买），颠倒混匀。

6. 将上步所得溶液全部加入到已装入收集管的吸附柱中。若一次不能加完溶液，可分多次转入。室温 2min，12,000 rpm 离心 20 秒，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。

7. 向吸附柱中加入 500 μl 溶液 II（使用前检查是否已加入无水乙醇），12,000rpm 离心 20 秒，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。

8. 重复步骤 7。

9. 12,000 rpm 离心 2 分钟，倒掉收集管中废液。将吸附柱置于室温数分钟，彻底晾干。特别注意：这一步目的是将吸附柱中残余乙醇去除，乙醇残留会影响后续酶促反应（酶切、PCR 等）。

10. 将吸附柱置于一个新的无 RNase 离心管中，向吸附柱的中间部位加入 30-50 μl 溶液 III，室温放置 1 分钟，12,000 rpm 离心 1 分钟，收集 RNA 溶液， -70°C 保存 RNA，防止降解。

注意：

- 1) 溶液Ⅲ体积不应小于 30 μl ，体积过小影响回收率。
- 2) 如果要提高RNA浓度，可将得到的溶液重新加入到吸附柱中，重复步骤10。

北京诺梵生物科技有限公司

主页 : <http://www.novinbio.com/>

电话 : 400-832-8698