

YALEPIC[®] 血液 RNA 提取试剂盒 (不含 DNase I)

YALEPIC[®] Blood RNA Isolation Kit (No DNase I)

产品货号: YR23003

产品保存及运输条件:

常温运输; 10 ~ 30°C 室温保存。

产品概述

YALEPIC[®] Blood RNA Isolation Kit (No DNase I) 可从新鲜全血 (或用柠檬酸盐、EDTA 或肝素等抗凝剂处理过的多物种血液样品) 中提取多样本总 RNA, 全程仅需 1 h。本产品采用独特硅基质材料, 可高效吸附 RNA, 有效去除血红素、肝素等酶抑制剂和杂质蛋白等污染物。提取的 RNA 可用于 RT-PCR、Real Time RT-PCR、芯片分析、高通量测序、Northern Blot、Dot Blot、Poly A 筛选、体外翻译、RNase 保护分析和分子克隆等多种分子生物学实验。

产品组分

序号	产品组分	YR23003 (50 T)
①	RCLP Buffer (10×)	60 ml
②	YL Buffer	36 ml
③	Wash Buffer RA	42 ml
④	Wash Buffer RB	12 ml
⑤	RNase-free ddH ₂ O	11 ml
⑥	Pure Columns YF with Collection Tubes	50 T
⑦	Pure Columns RT with Collection Tubes	50 T
⑧	Nuclease-free Centrifuge Tubes (1.5 ml) 赠	50 T

适用范围

≤ 1.5 ml 新鲜全血、用柠檬酸盐、EDTA 或肝素等抗凝剂处理过的血液样品。

自备试剂及仪器

无水乙醇 (新开封或提取 RNA 专用) ; 70% 乙醇 (RNase-free ddH₂O 配制) ; β -巯基乙醇;
Nuclease-free 离心管; Nuclease-free 移液器吸头; 高速离心机; 恒温水浴锅; 涡旋振荡仪等。

实验准备及注意事项

1. 使用本试剂盒前做好防护措施, 穿戴实验服、手套、口罩等。
2. 使用 Nuclease-free 的移液器吸头和消耗品, 配制溶液应使用 RNase-free ddH₂O, 试剂使用完后立即盖好瓶盖, 避免交叉污染的风险。
3. 使用新鲜样本, 尽量避免反复冻融。否则影响 RNA 提取得率和质量。
4. 本试剂盒不能用于加入抗凝剂的冷冻血液样本 RNA 的提取。
5. **RCLP Buffer (10 \times)** 需在使用前将溶液用 RNase-free ddH₂O (自备) 进行 10 倍稀释, 请将稀释后 **1 \times RCLP 工作液** 置于 2 ~ 8 $^{\circ}$ C 保存。
6. 首次使用 **Wash Buffer RB** 前应按照试剂瓶标签加入无水乙醇。
7. 使用前请检查 **YL Buffer** 中是否有晶体析出, 如有晶体析出, 可放置 56 $^{\circ}$ C 水浴锅使晶体溶解, 混匀后方可使用。**YL Buffer** 在使用前请加入 β -巯基乙醇, 至终浓度为 1%。如 1 ml **YL Buffer** 加 10 μ l β -巯基乙醇。加入 β -巯基乙醇的 **YL Buffer** 室温可保存 1 个月。
8. 如需单独除去 DNA, 建议选用无 RNase 的 **DNase I (YALI#YX27002)** 进行处理。

实验流程

1. 向 0.5 ~ 1.5 ml 新鲜的抗凝全血样本中, 加入 5 倍体积的 **1 \times RCLP 工作液**, 轻柔涡旋或颠倒混匀。冰上孵育 15 min, 孵育过程中混匀两次。 (注: 孵育过程中悬液会变成透明, 证明红细胞被裂解, 孵育时间可延长至 20 min)
2. 4 $^{\circ}$ C 2,100 rpm 离心 10 min, 小心吸弃上清。
3. 向沉淀中加入 2 倍样本体积的 **1 \times RCLP 工作液**。轻柔涡旋, 充分重悬沉淀。
4. 4 $^{\circ}$ C 2,100 rpm 离心 10 min, 小心彻底吸弃上清。
5. 向沉淀中加入 600 μ l **YL Buffer** (确认加入 β -巯基乙醇), 混匀。 (注: 若样本量 < 0.5 ml, 只需加入 350 μ l **YL Buffer**)
6. 将步骤 5 所得溶液全部加入到已装入收集管的过滤柱 (**Pure Columns YF with Collection Tubes**) 中, 若一次不能将全部溶液加入过滤柱中, 可分两次转入, 12,000 rpm 离心 2 min, 收集滤液于一个新的离心管 (自备), 弃去过滤柱。
7. 向过滤液中加入 1 倍体积的 70% 无水乙醇 (自备), 混匀。 (注: 沉淀不影响后续实验)

8. 将步骤 7 所得溶液全部加入到已装入收集管的吸附柱 (**Pure Columns RT with Collection Tubes**) 中, 若一次不能将全部溶液加入吸附柱中, 可分两次转入, 12,000 rpm 离心 20 s, 弃去收集管中废液, 将吸附柱放回收集管中。
9. 向吸附柱中加入 700 μl **Wash Buffer RA**, 12,000 rpm 离心 15 s, 弃去收集管中废液, 将吸附柱放回收集管中。 (如下游实验对微量 DNA 敏感, 则建议用以下步骤替代步骤 9, 彻底去除微量 DNA)
 - * 1) 向吸附柱中加入 350 μl **Wash Buffer RA**, 12,000 rpm 离心 15 s, 弃废液, 将吸附柱重新放回收集管中。
 - * 2) 配制 DNase I (YALI#YX27002) 混合液请参考相应说明书。
 - * 3) 向吸附柱中加入 80 μl 配制好的 DNase I 反应液, 20 ~ 30°C 孵育 15 min。
 - * 4) 向吸附柱中加入 350 μl **Wash Buffer RA**, 12,000 rpm 离心 15 s, 弃废液, 将吸附柱重新放回管中。
10. 向吸附柱中加入 500 μl **Wash Buffer RB** (使用前检查是否加入无水乙醇), 12,000 rpm 离心 15 s, 弃去收集管中废液, 将吸附柱放回收集管中。重复该步骤一次。
11. 12,000 rpm 离心 2 min, 弃去收集管中的废液。将吸附柱置于室温数分钟, 以彻底晾干。 (注: 乙醇残留会影响后续的酶促反应, 应将吸附柱中残余的乙醇彻底去除)
12. 将吸附柱置于一个新的 **Nuclease-free Centrifuge Tubes (1.5 ml)**, 向吸附柱的中间部位悬空加入 30 ~ 50 μl **RNase-free ddH₂O**, 室温放置 2 ~ 5 min, 12,000 rpm 离心 1 min, 收集 RNA 溶液, 提取的 Total RNA 可直接用于下游实验或于 - 85 ~ - 65°C 保存, 防止降解。

注:

 - 1) RNase-free ddH₂O 体积不应小于 30 μl , 体积过小影响回收率。
 - 2) 如果要提高 RNA 产量, 可用新的 30 ~ 50 μl RNase-free ddH₂O 加入到吸附柱中, 重复步骤 12。
 - 3) 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 12。