

Liquid RNA Extraction Mini Kit

液体 RNA 小量提取试剂盒

本产品适合于从新鲜血液或冻藏血液样品等液体样品中抽提 RNA。试剂盒基于硅胶柱纯化技术，提取过程无需进行耗时的醇类沉淀，整个提取过程只需 40 分钟。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 | RNB433-01 | RNB433-02 | RNB433-03 |
|-----------------------------|-----------|-----------|-----------|
| 纯化次数 | 10 次 | 50 次 | 250 次 |
| NA Extraction Micro Columns | 10 | 50 | 250 |
| 2ml Collection Tubes | 10 | 50 | 250 |
| ONRoI LS Reagent | 12 ml | 55 ml | 255 ml |
| Buffer W1R | 6 ml | 30 ml | 140 ml |
| Buffer W2R* | 3 ml | 15 ml | 2 x 30 ml |
| RNase Free Water | 1.5 ml | 10 ml | 50 ml |

保存条件

本产品除 ONRoI LS Reagent 外，可在室温(15~25°C)保存 12 个月。

准备事项

- Buffer W2R 使用前，须按瓶子标签所示，加入无水乙醇进行稀释。

实验步骤

该方案适合于从 $\leq 0.25\text{ml}$ 新鲜的人体血液样品中提取高纯度的总 RNA。

1. 在 2ml 离心管中，加入 250 μl 全血样品。
2. 立即加入 750 μl ONRoL LS Reagent 至样品中，充分涡旋混匀 30 秒。
加入裂解液后混合液会析出大量蛋白，请充分涡旋混匀提高裂解效率。
3. 充分涡旋后转移样品至新的 2ml 离心管中，室温静置 5-10 分钟充分裂解细胞。
4. 加入 200 μl 氯仿至裂解液中。用手剧烈振荡 15 秒；室温放置 3 分钟。
用涡旋取代振荡会带来更多的基因组 DNA 污染。氯仿必须按比例加入，过多的氯仿会迫使 DNA 和蛋白质回到水相中，导致 RNA 的纯度下降。
5. 4°C，12,000 x g 离心 15 分钟。
6. 转移最上层液体至新的离心管中，加入 1.5 倍体积的无水乙醇。涡旋混匀 15 秒。
7. 把 NA Extraction Micro Columns 装在 2ml 收集管中。转移 $\leq 750\mu\text{l}$ 混合液至柱子中。12,000 x g 离心 1 分钟。
8. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。转移剩余混合液至柱子。12,000 x g 离心 1 分钟。
9. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。加入 500 μl Buffer W1R 至柱子上。10,000 x g 离心 10 秒。
10. 倒弃滤液，把柱子装回收集管。加入 500 μl Buffer W2R(已用乙醇稀释)至柱子中，10,000 x g 离心 10 秒。
11. 倒弃滤液，把柱子装回收集管。加入 500 μl Buffer W2R(已用乙醇稀释)至柱子中，10,000 x g 离心 10 秒。
12. 倒弃滤液，把柱子装回收集管。13,000 x g 离心 2 分钟。
13. 将柱子转移至 1.5ml 离心管。加入 20~100 μl RNase Free Water 至柱子膜中央。室温静置 3 分钟。12,000 x g 离心 1 分钟。
柱子最小的洗脱体积是 20 μl ，若 RNA 产量超过 30 μg ，推荐进行第二次洗脱。
14. 弃去柱子，把 RNA 保存于-80°C。

常见问题

1. 柱子堵塞

- **样品用量太多：**加入氯仿后未充分振荡混匀。
- **离心不充分：**延长氯仿加入后的离心时间以去除高分子量杂质。

2. RNA 产量低

- **洗脱不充分：**RNase Free Water 需直接加到膜上，并静置 3 分钟后再离心，进行第二步洗脱以提高产量。
-

3. RNA 降解

- **RNase Free Water 被污染：**RNase Free Water 不含抑菌剂，室温放置或操作时可能会引入细菌或真菌污染。更换新的 RNase Free Water 或 DEPC 处理水。
- **样品贮藏问题：**反复解冻会引起 RNA 降解，确保样品解冻次数不要超过 2 次。
- **电泳原因：**常见的 RNA 降解现象都是电泳过程中引起的。更换新的 Loading Buffer 和电泳缓冲液。