

R6814C Blood RNA Kit

简易中文步骤

√实验前请按说明书正确稀释以下溶液

➤ 试剂盒提供的 Buffer ERL 是 10×浓度溶液，使用前必须加入去离子水进行稀释。

货号	加入量
R6814-00C	加入 45mL 去离子水
R6814-01C	将每瓶 Buffer ERL 全部转移到大小合适的瓶子中,加入 450mL 的去离子水。
R6814-02C	

➤ 使用【无水乙醇】对 RNA Wash Buffer II 进行稀释，稀释后室温保存

货号	加入量
R6814-00C	8mL
R6814-01C	48mL
R6814-02C	48mL (每瓶)

提取步骤:

1. 将 1 体积的血液与 5 体积的 1×Buffer ERL 混匀。(如 1mL 血液加入 5mL 1×Buffer ERL)

Note: 试剂盒提供的是 10×Buffer ERL，使用前请用去离子水稀释为 1×的使用。

2. 冰上放置 15min，期间混匀 2 次。当溶液变为半透明时，指示红细胞裂解。来自血细胞比容或 ECR 升高的个体的血液样品需将孵育时间延长至 20min。

3. 4°C，450xg 离心 10min 收集白细胞，吸弃上清。

4. 加入 2 体积的 1×ERL 悬浮洗涤白细胞。

5. 4°C，450xg 离心 10min 收集白细胞，吸弃上清即可得到一团白细胞。

6. 加入 100μl DEPC Water 悬浮白细胞。注：如是细胞样品，则收集后去培养液按以下操作即可

7. 加入 1mL RNA-Solv Reagent 吸打或涡旋匀浆裂解样品。在加入 RNA-Solv Reagent 后，样品可保存到-70°C中；

8. 上下颠倒混匀 5-10 次，室温静置 3min；

9. 每 1mL RNA-Solv Reagent 中加入 0.2mL 氯仿，剧烈涡旋 15s，冰上放置 10min。

10. 4°C，12,000xg 离心 15min。

11. 小心转移上清（不超过 80%）至离心管，加入等体积的 70%乙醇混匀。

12. 将 HiBind® RNA microElute column 套入到 2mL 收集管中，转移 800μl 步骤 11 中的混合液到柱子中，室温下 10,000xg 离心 30s，弃去滤液。

13. 重复步骤 12，直至所有的混合液全部从柱子中过滤。

14. 将 HiBind® RNA microElute column 套入到 2mL 收集管中，加入 500µl RWC Wash Buffer，室温下 10,000xg 离心 30s，弃去滤液。

15. 将 HiBind® RNA microElute column 套回到 2mL 收集管中，加入 500µl RNA Wash Buffer II 洗涤柱子，按以上条件离心，弃去滤液。

Note: RNA Wash Buffer II 在使用前必须按照说明书加入无水乙醇稀释。

16. 将 HiBind® RNA microElute column 套回到 2mL 收集管中，室温下，10,000xg 空柱子离心 2min，甩干柱子基质。

注意：不要忽略此步—这对从柱子上除去乙醇至关重要。

17. 将 HiBind® RNA microElute column 套入到新的 1.5mL 收集管中，加入 15-30µl DEPC-treated water 到柱子基质，10,000xg 离心 1min 洗脱出 RNA。

冻存血液样本方案：

1. 将 100-200µl 的血液样品到新的微量离心管；
2. 加入 1mL RNA-Solv Reagent，涡旋混匀，室温静置 3min；
3. 每 1mL RNA-Solv Reagent 加入 0.2mL 氯仿，涡旋混匀 15s，在冰上孵育 10min；
4. 4°C，12,000xg 离心 15min；混合物呈现出 3 相，其中下层为苯酚-氯仿相，中间相和水相，其中 RNA 在水相；
5. 转移不超过 80% 的上清液至新的离心管中，加入等体积 70% 的乙醇，涡旋混匀；
6. 后续步骤按照前面方案的步骤 12-17 提取；

中文翻译仅供辅助阅读，详情请以英文说明书为准