AipPure 超速全血总 RNA 提取试剂盒, TRIzol LS 法(离心柱型)

AipPure Ultra-Speed Whole Blood Total RNA Extraction Kit,TRIzol LS(Centrifugal Column)

使 用 说 明 书

◆目录号：RE231

◆试剂盒组成、储存、稳定性：

试剂盒组成	保存	50 次(RE231-01)
裂解液 RLS	4℃避光	50mL
去蛋白液 RE	RT	25mL
漂洗液 RW	RT	10mL 第一次使用前按说明加指定量乙醇
RNase-free Water	RT	10mL
吸附柱 RA 和 2mL 收集管 (RNase-free)	RT	50 套

◆储存条件：本试剂盒在室温储存 12 个月不影响使用效果。

◆储存事项：

1. 因此运输和储存均在室温下(15℃－25℃)进行。裂解液 RLS 可以常温运输，收到后 4℃避光可长期保存，常温保存 3 个月也不影响使用质量。
2. 避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、PH 值变化，各溶液使用后应及时盖紧盖子。

◆产品介绍：改进的异硫氰酸胍/酚一步法(液体样品专用 TRIzol LS 法)裂解细胞和灭活 RNA 酶，然后总 RNA 在高离序盐状态下选择性吸附于离心柱内硅基质膜，再通过一系列快速的漂洗－离心的步骤，去蛋白液和漂洗液将细胞代谢物、蛋白等杂质去除，最后低盐的 RNase-free Water 将纯净 RNA 从硅基质膜上洗脱。

◆产品特点：

1. 离心吸附柱内硅基质膜全部采用特制吸附膜，柱与柱之间吸附量差异极小，可重复性好。
2. 结合了异硫氰酸胍/酚一步法试剂稳定性好，纯度高和离心柱方便快捷的优点，不需要异丙醇沉淀和乙醇洗涤过程，RNA 可以直接从离心柱上洗脱避免了过度干燥不易溶解问题。

3. 独有的裂解液 RLS 配方，可直接裂解全血，不需要先裂解去除红细胞。
4. 多次漂洗去蛋白过程，提取 RNA 纯度更高。
5. 有效的去除了 5S 在总 RNA 中含量，提高了纯度。

◆注意事项：

1. 第一次使用前请先在漂洗液RW瓶中加入指定量乙醇，加入后请及时打钩标记已加入乙醇，以免多次加入！
2. 本试剂盒抑制RNA酶效果极佳，所有离心步骤如未加说明，均可在常温进行。
3. 裂解液RLS和去蛋白液RE中含有刺激性有害化合物，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，要用大量清水或者生理盐水冲洗。
4. 考虑到环保问题，本试剂盒不含有实验室常用试剂氯仿，使用前需要自备氯仿。
5. 常规的琼脂糖凝胶电泳和变性胶电泳均可以用来分析RNA的质量。好的RNA产物在电泳后应该可以看到明显的二条优势核糖体RNA带，分别为~5Kb(28S)，~2Kb(18S)，条带亮度比值约为2：1。有时候也可以看到~0.1kb和0.3Kb(5S，tRNA)带。但有时候根据不同的物种如某些植物组织可以看到4，5条带也属于正常现象，如果RNA未成熟的前体或者不均一核RNA、小核RNA提取出来也可能看到介于7Kb和15Kb之间的不连续的高分子量条带。
6. 检测OD_{260}/OD_{280}吸光度比值时，如需稀释RNA样品应该用TE(PH 8)，如果用水稀释后检测，由于一般水离子强度和PH值低，会使OD_{280}升高，从而使比值降低。
7. 加入裂解液RLS匀浆后，加氯仿前，样品可在 –60℃-70℃ 保存一个月以上。
8. 若提取细菌RNA，推荐：AipPure 细菌RNA快速提取试剂盒(离心柱型)(货号：RE260)和AipPure Plus 细菌RNA快速提取试剂盒(离心柱型)(货号：RE261)。

◆操作步骤(实验前请先阅读注意事项)：

提示：第一次使用前请先在漂洗液RW瓶中加入指定量无水乙醇！

1. 取0.25mL 血液(或血清，血浆，脑脊液等等)加入0.75mL 裂解液RLS，用加样枪吹打液体样品几次以帮助裂解样品中细胞。裂解液RLS 和液体样品的终体积比总是3：1。
2. 将样品剧烈震荡混匀后，在室温静置5分钟以使核蛋白体完全分解。
3. 加0.2mL 氯仿，剧烈振荡15秒并室温静置2分钟。
4. 于4℃ 13000rpm 离心10分钟，样品会分成三层：下层有机相，中间层和上层无色的水相，RNA存在于水相中。水相层的容量大约为所加入裂解液RLS体积的60%，把水相转移到新管中，进行下一步操作。
5. 加入0.5 倍体积无水乙醇，颠倒混匀(此时可能会出现沉淀)。得到的溶液和可能沉淀一起转入吸附柱RA中(吸附柱套在收集管内)。

6. 室温(以下步骤均为室温)13000rpm 离心30秒，弃掉废液，将吸附柱重新套回收集管。
7. 加500μL去蛋白液RE，12000rpm 离心30秒，弃掉废液。
8. 加入500μL漂洗液RW(请先检查是否已加入无水乙醇！)，12000rpm 离心15秒，弃掉废液。
9. 重复一遍步骤8。
10. 将吸附柱RA放回空收集管中，13000rpm 离心2分钟，尽量除去漂洗液，以免漂洗液中残留乙醇抑制下游反应。
11. 取出吸附柱RA，放入一个RNase-free离心管中，根据预期RNA产量在吸附膜的中间部位加30-50μL的RNase-free Water(事先在65-70℃水浴中加热效果更好)，室温放置2分钟，13000rpm 离心1分钟。如果需要较多RNA，可将得到的溶液重新加入离心吸附柱中，离心1分钟，或者另外再加30μL的RNase-free Water，离心1分钟，合并两次洗脱液。

    注：如果需要RNA浓度较高，可以适当减少洗脱体积，但是最小体积最好不少于30μL，体积过小降低RNA洗脱效率，减少RNA产量。

==========

扫码关注我们