

A&DPure 全血总 RNA 提取试剂盒说明书

产品组成

A&DPure 全血总 RNA 提取试剂盒 Cat. No.	5 次样品 A-5201005	50 次制备 A-5201050
核酸纯化柱	5 个	50 个
2 ml 离心管	5 个	50 个
Buffer L9	6 ml	55 ml
Buffer WA（浓缩液）	1.9 ml	12 ml
Buffer WBR（浓缩液）	1.5 ml	12 ml
Buffer TE	0.6 ml	2 ml×2
说明书	1 份	1 份

产品储存

Buffer L9 请置于 2~8℃ 贮存。

其他物品和试剂如果储存于室温（15~25℃），可在两年内保持使用性能无明显变化；如果将产品储存于 2~8℃，可延长产品的有效期至两年以上。

技术支持

艾德科技（北京）有限公司研发部：e-mail: tech@aderr.com 电话：010-57225208。

产品介绍

本产品适合从 500 μl 新鲜的全血或者骨髓中分离纯化总 RNA（包括全血中的病毒 RNA）。本试剂盒采用强烈的裂解液溶解并沉淀去除血红蛋白和基因组 DNA。在含有 RNA 的上清液中补加乙醇后加入核酸纯化柱，RNA 结合在核酸纯化柱上，残留的蛋白与 PCR 抑制物则被过滤除去，RNA 经 Buffer WA 和 Buffer WBR 洗涤后，用 Buffer TE 洗脱，即可用于各种分子生物学实验。

用户需自备的试剂与物品

1. 无水乙醇
2. 1.5ml 离心管（必须选用 RNase-free 的 1.5ml 离心管）
3. 移液器吸头（为避免 RNA 酶的污染，请选用含有滤芯的 RNase-free 移液器吸头）
4. 乳胶手套、一次性口罩等防护用品和纸巾
5. 台式少量离心机（可配离心 1.5ml 离心管和 2ml 离心管的转子）
6. 旋涡震荡器
7. 不使用 RNA 酶的实验室

使用前准备

- 1) 如果离心机有制冷功能，请将温度设置到 25℃。
- 2) 根据试剂瓶标签上的指示在 Buffer WA 和 Buffer WBR 中加入无水乙醇，并在标签的方框中打勾作好“乙醇已加”的标记。
- 3) 由于唾液、皮肤上均含有 RNA 酶，请在 RNA 的提取的全过程中都戴口罩和乳胶手套。
- 4) 尽量使用离体 3 小时内的新鲜全血或者骨髓进行 RNA 提取，否则将因为 RNA 的降解而影响最终 RNA 的回收效率。如果不能及时将新鲜的全血进行 RNA 提取，可将全血用 Buffer L9 溶解后于 -70℃ 冻存。（详见步骤 1）

操作步骤：

1) 在1.5 ml 离心管中加入1ml Buffer L9，再加入500 μ l全血或骨髓，漩涡振荡30秒混合均匀。

* 如果不能及时将新鲜获得的全血或者骨髓进行RNA提取，可在本步骤将溶解后的全血于-20℃冻存。冻存两个星期内不影响RNA的提取效率。

* Buffer L9具有腐蚀性，请戴防护用品进行操作。

2) 13000 rpm离心10分钟。在一个洁净的1.5 ml 离心管中加入400 μ l 无水乙醇备用。

3) 吸取 700 μ l 离心上清转移到装有无水乙醇的 1.5 ml 离心管中，勿弃吸头，直接用吸头吸注两次混匀，吸取混合液进入步骤 4) 的操作。

* 上清中所含的血色素可在洗涤步骤被除去，不影响最终 RNA 的纯化效果。

4) 转移 550 μ l 步骤 3) 中的混合液转移到核酸纯化柱（核酸纯化柱置于 2ml 离心管中）中，盖上管盖，12000 rpm 离心 30 秒。

5) 弃 2ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2ml 离心管中，将 1.5 ml 离心管中剩余的液体全部倒入核酸纯化柱中，盖上管盖，12000 rpm 离心 30 秒。

* 滤液无须彻底弃尽，如果要避免粘附在离心管管口的滤液对离心机的污染，可将 2ml 离心管在纸巾上倒扣拍击一次。

6) 弃 2ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2ml 离心管中，在核酸纯化柱中加入 500 μ l Buffer WA，盖上管盖，12000 rpm 离心 30 秒。

* 确认在 Buffer WA 中已经加入无水乙醇。

7) 弃 2ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2ml 离心管中，在核酸纯化柱中加入 700 μ l Buffer WBR，盖上管盖，12000 rpm 离心 30 秒。

* 确认在 Buffer WBR 中已经加入无水乙醇。

8) 弃 2ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2ml 离心管中，14000 rpm 离心 1 分钟。

* 如果离心机的离心速度达不到 14000 rpm，则用最高速离心 2 分钟。

* 请勿省略该步骤，否则可能因所纯化的核酸中混有乙醇而影响后续的实验效果。

9) 弃 2ml 离心管，将核酸纯化柱置于一个 RNase-free 的 1.5ml 离心管中，在纯化柱中加入 50 μ l Buffer TE，盖上管盖，室温静置 1 分钟，12000 rpm 离心 30 秒。

* 如果离心机没有防泄漏的盖子，请将离心条件改为 8000 rpm 离心 1 分钟，以免管盖脱落而损伤离心机。

10) 弃纯化柱，洗脱的 RNA 可立即用于各种分子生物学实验；或者将 RNA 储存于-70℃备用。

* 即使电泳检测不到基因组 DNA 的条带，也不代表所获得的 RNA 中没有基因组 DNA。如果要彻底去除 DNA 的污染，请用不含 RNA 酶的 DNA 酶处理获得的 RNA。

* 如果用于病毒 RNA 检测，适当增加模板的用量可提高检测的敏感性（终体积为 50 μ l 的一步法 RT-PCR 反应体系中加入 25 μ l 洗脱的 RNA 作为模板，未见明显的抑制效果）。