

特点:

Tiosbio®全血/液体样本总RNA提取试剂盒适用于各种液体样本的RNA提取。裂解液RLS可高效裂解液体中的细胞，灭活RNA酶；使用的特异性吸附柱，可提取无蛋白、基因组、细胞代谢物等杂质污染的高纯度、高质量的总RNA。

1. 无污染：整套试剂盒采用RNase-Free处理；

2. 特殊性：使适用于提取血液样本等液体样品的总RNA；

3. 易操作：操作简便，提取过程仅需 30分钟左右；

4. 吸附柱：含有特异性吸附柱。通过漂洗—离心—洗脱的步骤提取；

5. 高质量：有效保证RNA的完整性，回收RNA 效率高，纯度高，无蛋白和其他杂质污染。OD260/OD280的比值可达1.9~2.2，可用于RT-PCR、Real Time PCR、Northern blot、Dot blot、poly A筛选、体外翻译、构建cDNA文库等各种分子生物学实验。

包装量及储存条件:

BT0061S 为 20 次；BT0061M 为 50 次。室温（15~25℃）干燥条件保存 12 个月。裂解液 RLS 在 4℃ 避光条件下可保存 12 个月。

试剂盒组成	保存	BT0061S 20次	BT0061M 50次
裂解液RLS	4℃避光	25 mL	50 mL
去蛋白液RE	室温	15 mL	25 mL
漂洗液RW	室温	5 mL	10 mL
RNase-free H ₂ O	室温	10 mL	10 mL
70%乙醇	室温	4 mL	9 mL
RNase-free吸附柱RA 和收集管（2mL）	室温	20套	50套
说明书	室温	1份	1份

*：第一次使用前请先在漂洗液RW中加入指定量无水乙醇，加入后请立即勾选标记表示已加入乙醇，以免多次加入！

注意事项:

1. 本产品仅用于科研，禁止用于医药、临床医疗、食品和化妆品等用途。

2. 初次使用前，请先在漂洗液 RW 瓶和 70%乙醇瓶中加入指定量无水乙醇。加入后及时打钩标记已加入无水乙醇，防止重复添加。各溶液使用后应及时盖紧盖子，避免试剂挥发变性，影响实验效果。

3. PLANTaid 可以去除植物样品中多糖多酚、次级代谢产物、丰富色素是不可缺少的助提剂。提取普通植物组织可以不加 PLANTaid，以提高 RNA 产量。

4. 裂解液 RLT 和去蛋白液 RW1 含有刺激性有害化合物，是强变性剂，应避免与皮肤、衣物等接触。若不小心接触到眼睛或皮肤时，请用大量清水或者生理盐水冲洗，严重时请立即到医院进行处理。

5. 样品处理量绝对不可超过 RNA 吸附柱 RA 的处理能力，否则将造成 DNA 残留或总 RNA 提取产量降低。

6. 植物组织裂解是否充分直接影响到 RNA 提取的质量和产量，有些植物组织（例如玉米的乳白色胚乳）或丝状真菌等个别情况，其次级代谢产物较特殊，可能会导致 RNA 无法提取，此种情况可使用裂解液 RLC 解决。

7. 实验操作中要避免 RNase 的污染和样本间的交叉污染。

样品处理:

1. 液体样品：每 250μL 液体样品（血清、血浆、脑脊液等）加入 750μL 裂解液 RLS，用移液器吹打混匀样品，裂解样品中细胞。每 5~10×10⁶ 个细胞至少加入 0.75mL 裂解液 RLS。确保裂解液 RLS 和样品的体积比总是 3：1。

2. 贴壁细胞：直接在培养板中加入裂解液裂解细胞，按培养板面积每 10cm² 加入 300~400μL 裂解液 RLS，用取样器吹打混匀。用移液器反复吹打，直到看不到明显的细胞团为止。裂解液加入量不足会有 DNA 污染。

3. 悬浮细胞：离心收集细胞。每 5~10×10⁶ 动物、植物和酵母细胞或每 1×10⁷ 细菌细胞加入 750μL 裂解液 RLS 混匀。

如果悬浮细胞液的体积小于 250 μ L，加入灭菌水将组织样品体积调整到 250 μ L。确保裂解液 RLS 和样品的体积比总是 3: 1。用移液器反复吹打，直到看不到明显的细胞团为止。不需要洗涤，避免 mRNA 降解。

使用方法：

- 1.将匀浆样品剧烈震荡后在室温条件下静置 5 分钟以使核蛋白体完全解离。
- 2.每 750 μ L 裂解液 RLS 加 200 μ L 氯仿。剧烈震荡 15 秒并将其在室温下静置 3 分钟。
3. 4 $^{\circ}$ C 12,000rpm 离心 10 分钟，样品会分成三层：下层有机相，中间层和上清水相，RNA 存在于上清水相中。把上清水相转移到新管中（不要触碰中间层）。
- 4.加入上清水相等体积的 70%乙醇（请先检查是否已加入无水乙醇），可能会出现沉淀，立即吹打混匀。将混合溶液转入套有收集管的吸附柱 RA 中。12,000rpm 离心 45 秒，弃废液。
- 5.加 500 μ L 去蛋白液 RE，12,000rpm 离心 45 秒，弃废液。
- 6.加入 500 μ L 漂洗液 RW（请先检查是否已加入无水乙醇），12,000rpm 离心 45 秒，弃废液。
- 7.重复步骤 6 一次。
- 8.将吸附柱 RA 放回空收集管中，13,000rpm 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。
- 9.取出吸附柱 RA（避免吸附柱 RA 的底部碰到收集管里面的废液），放入新的 RNase-free 离心管中，在吸附膜的中间部位加 30 ~ 50 μ L RNase-free H₂O 室温静置 1 分钟，12,000rpm 离心 1 分钟。获得总 RNA 溶液后，需将 RNA 溶液保存在 -80 $^{\circ}$ C，防止降解。