

HiPure PX Blood RNA Kit C

血液 RNA 提取试剂盒 C

HiPure PX Blood RNA Kit 是专门为血液 RNA 保存和提取设计的。试剂盒适合从 Paxgene Tube, RNASafer LS Reagent 保存液保存的血液样品中高效回收 RNA。试剂盒基于硅胶柱纯化技术, 整个提取过程只需 40 分钟。试剂盒适合于从 $\leq 2.5\text{ml}$ 的血液中抽提总 RNA。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	R4168-02C	R4168-03C
纯化次数	10 次	50 次
HiPure RNA Mini Columns I	10	50
gDNA Filter Mini Columns	10	50
2ml Collection Tubes	30	150
Buffer PXL	10 ml	40 ml
Buffer RW1	10 ml	60 ml
Buffer RW2*	5 ml	20 ml
RNase Free Water	1.8 ml	15 ml
Proteinase K Solution	0.3 ml	1.2 ml
DNase I	120 μl	650 μl
DNase Buffer	6 ml	30 ml

版本号: 2023-06-09

保存条件

HiPure PX Blood RNA Kit 除 Proteinase K 和 DNase I 外, 其它组分可在室温下(15-25 $^{\circ}\text{C}$)干燥保存 18 个月。收到产品后, 请把 Proteinase K、DNase I 保存于 -20 $^{\circ}\text{C}$ 。

准备事项

- 在 Buffer RW2 中，加入 4 倍体积无水乙醇，于室温保存。

实验步骤

1. 取出 Paxgene Tube 或 RNASafer LS Reagent 保存的样品，室温静置 2 小时恢复至室温（室温保存样品无需静置）。室温下， $3,000\text{-}5,000 \times g$ 离心 10 分钟收集 RNA 沉淀，倒弃上清液，反扣于吸水纸轻轻拍打让残液完全流尽。
若管壁上仍有较多残液，短暂离心后用移液枪吸尽所有的残液。残液超过 50 μl 时会明显影响 RNA 产量。
2. 加入 700 μl Buffer PXL 和 20 μl Proteinase K 至样品中，涡旋重悬沉淀，55 $^{\circ}\text{C}$ 振荡温育 15 分钟。
3. （可选） $12,000\text{-}15,000 \times g$ 离心 3 分钟去除未消化的杂质。
若第一步残液充分去除后，这一步可以不需要离心。
4. 取 gDNA Filter Mini Column 柱装在 2ml 收集管中。把上清液转移至 gDNA 过滤柱子中。 $12,000 \times g$ 离心 1 分钟。
5. 弃去 gDNA 过滤柱子。加入 400 μl 无水乙醇至滤液中，吸打混匀 3-5 次。
6. 把 HiPure RNA Mini Column I 装在 2ml 收集管中。转移一半的混合液至 RNA 柱中。 $12,000 \times g$ 离心 1 分钟。
7. 倒弃滤液，把柱子装回收集管。转移剩余混合液至柱子。 $12,000 \times g$ 离心 1 分钟。
8. 倒弃滤液把柱子装回收集管中。加入 500 μl Buffer RW1 至柱子上。 $12,000 \times g$ 离心 1 分钟，丢弃收集管和滤液。
9. 把柱子装在新的收集管中。按下表配制 DNase I 反应液，轻轻混匀，把 DNase 反应液加到 RNA Mini Column 的膜中央，室温静置 10 分钟。

成分	用量
DNase Buffer	70 μ l
DNase I(20Units/ μ l)	10 μ l

10. 加入 500 μ l Buffer RW1 至柱子中，室温静置 3 分钟。12,000 \times g 离心 1 分钟。
11. 倒弃滤液，把柱子装回收集管。加入 500 μ l Buffer RW2(已用乙醇稀释)至柱中，12,000 \times g 离心 1 分钟。
Buffer RW2 在使用之前，必须按说明书或瓶子标签所示用无水乙醇进行稀释。
12. 倒弃滤液，把柱子装回收集管。加入 500 μ l Buffer RW2 (已用乙醇稀释)至柱中，12,000 \times g 离心 1 分钟。
13. 倒弃流出液，把柱子装回收集管。12,000 \times g 离心 3 分钟甩干柱子。
14. 将柱子转移至 1.5ml 离心管，加入 30~50 μ l RNase Free Water 至柱子膜中央。静置 3 分钟。12,000 \times g 离心 1 分钟。
15. 把 RNA 保存于-20 $^{\circ}$ C 和-80 $^{\circ}$ C。

血液 RNA 保存步骤：

1. 用 5~15ml 离心管中，加入 1~2ml 新鲜血液、唾液、尿液和细胞培养液等。
2. 立即加入 3~4 倍体积 RNASafer LS Reagent (货号 R4812)，颠倒混匀 10-20 次，室温放置 30 分钟。
3. 该混合液可以 2-8 $^{\circ}$ C 可以保存 3 天，-20/-80 $^{\circ}$ C 保存至少六个月以上，其 RNA 不会降解。

常见问题回答

该列表可能有利于解决您在提取过程中所碰到的问题。另外，Magen 的技术人员也可以随时为您提供咨询服务，若您对试剂盒存在疑问或有良好的建议，又或者您在分子生物学实验中碰到问题，都请您联系我们。我们将竭尽所能为您排忧解难。

现象	原因及解决方法
柱子堵塞	
RNA/阳离子复合物洗涤不干净	加入 RNase Free Water 至 RNA/阳离子复合物后，高速涡旋充分打散沉淀。
样品起始用量太多	减少样品用量。试剂盒一次最多能处理 2.5×10^7 白细胞。处理病人血液时，其白细胞数量会发生明显变化。血液用量必调整 2.5ml。
样品消化不彻底	加入 Buffer PXL 后，必须高速涡旋。若涡旋后仍有较大块的组织块时，延长涡旋时间或用移液枪吸打 10-15 次。延长 Proteinase K 消化时间至 10-30 分钟，让 RNA/阳离子复合物完全消化。
RNA 产量低	
RNA 与保护剂形成的沉淀不充分	血液与保护液混合后，放置时间不能小于 20 分钟，否则 RNA 与保护剂形成的复合物会不充分。
低温离心	血液与保护液混合液须室温离心，低温离心会导致产量下降。
样品消化不彻底	同上
Buffer MBR4 没有加入乙醇稀释	使用前，Buffer RVV2 须加入 4 倍体积的无水乙醇稀释，或按瓶子标签指示进行稀释。
DNA 污染	
膜上 DNase 消化	该产品携带的 gDNA 柱可高效地去除基因组 DNA。但对灵敏的 RT-PCR 应用，推荐另订购 DNase Column Kit 进行膜上 DNase 消化，以彻底去除基因组 DNA 的污染。

若以上的解答还是无法解决您的问题，请您联系我们。