**血液RNA核酸免提取试剂盒**

**试剂盒应用**

本试剂盒采用特殊裂解液B从新鲜全血、抗凝血、血凝块中提取并纯化RNA。整个过程仅需要10分钟。采用硅基材质吸附柱，高效专一吸附RNA，保证提取高纯度、高产量RNA。该裂解液配方中含有RNA保护剂，能够抑制RNA降解、保护RNA完整，从而提高RNA产量。提取RNA可用于RT-PCR、RT-qPCR、Northern Blot、分子克隆、文库构建等。

本试剂盒仅供研究使用，不可用于临床、食品、化妆品等领域。

**试剂盒组成**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **组分** | **Col-R0301（50T）** | **编号** |
| 裂解液B | 35 mL | Col-R0301A |
| 洗涤液BW1 | 25 mL | Col-R0301B |
| 洗涤液BW2 | 12 mL | Col-R0301C |
| 洗脱液B | 5 mL |  |
| RNA吸附柱 | 50套 | Col-R0301E |

**备注：1、第一次使用前，在洗涤液BW2中加入48mL无水乙醇，并标记“√”和时间，避免重复加入。**

**保存条件**

室温保存一年。

**自备材料**

水浴锅或金属浴、无水乙醇、1.5mL无RNase离心管、蛋白酶K（20mg/mL，或货号QR0301）、DNase I（2U/μL，或货号QR0102）

**使用方法**

1. 300μL血液（不足300μL，无菌PBS补齐）中加入500μL裂解液B和10μL蛋白酶K，颠倒混匀。
2. 55℃孵育2分钟。

**备注：如果RNA提取量比较低，可延长孵育时间到10分钟。**

1. 12,000rpm离心30秒。取750μL上清。
2. 加入0.5倍体积无水乙醇，上下颠倒混匀，
3. 全部加入RNA吸附柱中，12,000rpm离心30秒，倒掉收集管中废液。

6. 向RNA吸附柱中加入500μL洗涤液BW1，12,000rpm离心30秒，倒掉收集管中废液。

7. 向RNA吸附柱中加入500μL洗涤液BW2，12,000rpm离心30秒，倒掉收集管中废液。

8. 重复步骤7一次。

9. 12,000rpm离心2分钟，倒掉收集管中废液。

10. 将RNA吸附柱放入新1.5mL无RNase离心管中，加入30-50μL洗脱液B，室温放置1分钟。

11. 12,000rpm离心2分钟，得到RNA溶液，-80℃保存。

**注意事项**

1. 务必在超净台中进行操作，常换手套，防止RNA降解。
2. 尽可能使用新鲜样本进行RNA提取。
3. 使用无DNase无RNase的吸头和离心管，防止RNA降解，常更换吸头，防止交叉污染。
4. 为了提高洗脱效率，可提前将洗脱液B置于65℃水浴后再使用。
5. 根据后续试验需求，请使用DNase I（货号QR0102）进行基因组清除。

**常见问题解析**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **问题** | **可能原因** | **推荐解决方案** |
| RNA吸附柱堵塞 | 1. 上样量太高
2. 加入RNA吸附柱的液体中有固体成分或沉淀物
 | 1. 减少上样量。
2. 增加离心时间。
3. 切勿吸取到可见固体成分。
4. 再次离心。
 |
| RNA得率低 | 1. 未离心下来
2. 样本量太大，裂解不充分
 | 1. 减少样本量。
2. 重复洗脱步骤一次。
 |
| RNA降解 | 1. 样本不新鲜
2. RNA酶污染
 | 1. 使用新鲜样本。
2. 使用保存在样品保存液中样本。
3. 样本保存在-80℃甚至液氮中，尽可能现取现用。
4. 常更换手套。
5. 常更换吸头和离心管。
6. 使用无DNase无RNase的吸头和离心管。
 |