



RNApure Circulating Reagent

游离RNA（血清血浆尿液）提取试剂

目录号：CW2281S（50 ml）

保存条件：2-8℃

产品内容

Component	CW2281S 50 preps
RNApure Circulating Reagent	50 ml

产品简介

游离RNA（血清血浆尿液）提取试剂特别适用于从血清、血浆中分离纯化包括microRNA和其他小RNA（<200nt）在内的总RNA。本品灵活处理不同起始量的样品，在有效裂解样本的同时，可有效保存RNA的完整性，提取的总RNA完整性好，无蛋白和DNA污染，提取的RNA可用于RT-PCR、Northern Blot和分子克隆等下游实验。

自备试剂：氯仿、异丙醇、75%乙醇、无RNase的水（新开封或提取RNA专用）。

注意事项

1. 预防RNase污染，应注意以下几方面：
 - 1) 使用无RNase的塑料制品和枪头，避免交叉污染。
 - 2) 玻璃器皿应在使用前于180℃高温下干烤4小时，塑料器皿可在0.5 M NaOH中浸泡10分钟，用水彻底冲洗后高压灭菌。
 - 3) 配制溶液应使用无RNase的水。
 - 4) 操作人员戴一次性口罩和手套，实验过程中要勤换手套。
2. 提取的样品避免反复冻融，否则影响RNA提取得率和质量。
3. 本品中含有苯酚，具有毒性和腐蚀性。如果吸入体内、接触皮肤、吞食等会导致中毒、灼伤以及其他身体伤害。使用本制品时应穿戴防护物品，如防护服装、手套、眼罩、面罩等。如果不小心接触到眼睛，应立即用大量的水冲洗并前往医院治疗。
4. 样品用游离RNA（血清血浆尿液）提取试剂匀浆后，如不即刻加入氯仿，置于-70℃可放置一个月以上。
5. 保存在75%乙醇中的RNA沉淀，2-8℃可以保存一周，-20℃条件下可以保存1年。RNA半衰期比较短，容易降解，建议提取后尽快进行后续实验，如反转录成cDNA，Northern Blot等。
6. 若下游实验对DNA非常敏感，建议用不含RNase的DNase I（货号：CW2090）对RNA进行处理。

操作步骤

1. 取**200 μ l**新鲜或者冻存的**血清或血浆**，加入**3倍体积**的游离RNA（血清血浆尿液）提取试剂。**振荡30秒，充分混匀。**
注意：样本加入游离RNA（血清血浆尿液）提取试剂后，可能会出现沉淀，经过振荡混匀后，沉淀基本消失。若仍有少量沉淀，不影响下游实验，可继续操作。
2. 将处理后的样品在室温放置**5分钟**，使蛋白核酸复合物完全分离。
3. 向以上溶液中加入**氯仿**，每使用**1 ml血清/血浆样本专用总RNA提取试剂加入0.2 ml氯仿**，盖好管盖，剧烈振荡**15秒**，室温放置**2-3分钟**。
注意：如不能涡旋混匀，可手动快速颠倒混匀2分钟。
4. **4 $^{\circ}$ C 12,000 rpm**离心**20分钟**，此时样品分成三层：红色有机相，中间层和上层无色水相，RNA 主要在水相中，把水相转移到一个新的无RNase的离心管（自备）中。
5. 在得到的水相溶液中加入**等体积异丙醇**，颠倒混匀，室温放置**30分钟**。或**-20 $^{\circ}$ C**沉淀过夜，效果更佳。
6. **4 $^{\circ}$ C 12,000 rpm**离心**20分钟**，弃上清。
注意：离心前RNA沉淀经常是看不见的，离心后在管侧和管底形成胶状沉淀。
7. 加入**75%乙醇（用无RNase的水配制）**洗涤沉淀。每使用**1 ml**游离RNA（血清血浆尿液）提取试剂加入**1 ml 75%乙醇**对沉淀进行洗涤。
8. **4 $^{\circ}$ C 12,000 rpm**离心**3分钟**，小心吸弃上清，注意不要吸弃RNA沉淀。
注意：剩余的少量液体可短暂离心，然后用枪头吸出，注意不要吸弃沉淀。
9. 室温放置**2-3分钟**，晾干。加入**30-100 μ l无RNase的水**，充分溶解RNA，得到的RNA保存在**-70 $^{\circ}$ C**，防止降解。
注意：沉淀不要过分干燥，以免难于溶解。

本产品仅供科研使用，请勿用于临床诊断及其它用途