

血液 RNA 小量提取试剂盒

E.Z.N.A.[®] Blood RNA Mini Kit

货号	R6814-00	R6814-01	R6814-02
反应次数	5 次	50 次	200 次
HiBind [®] RNA Mini Columns	5 个	50 个	200 个
2 mL Collection Tubes	10 个	100 个	400 个
ERL Buffer, 10 x Concentrate	5 mL	50 mL	3 x 50 mL
MRC Lysis Buffer	5 mL	40 mL	125 mL
RNA Wash Buffer I	5 mL	45 mL	180 mL
RNA Wash Buffer II	2 mL	12 mL	50 mL
Nuclease-free Water	5 mL	10 mL	40 mL
User Manual	✓	✓	✓

★ 保存方式及稳定性

1. 按条件保存的试剂盒保质期为 24 个月（见盒外失效日期），所有组分均可常温运输；
2. 当贮存温度较低时，MRC Lysis Buffer 易析出沉淀，请在使用前把整瓶试剂置于 37°C 中至沉淀完全溶解，充分混匀后再使用。
3. 本试剂盒仅限科学研究使用。

★ 实验前准备

1. 按照下表提示，使用【无水乙醇】对 RNA Wash Buffer II 以及【无菌水】对 ERL Buffer, 10 x Concentrate 进行稀释，稀释后室温保存；

货号	RNA Wash Buffer II 稀释	ERL Buffer 稀释
	无水乙醇 加入量	无水乙醇 加入量
R6814-00	8 mL	45 mL
R6814-01	48 mL	取一个干净的 500mL 空瓶，加入 50 mL 10 x ERL Buffer 和 450 mL 无菌水，混合均匀
R6814-02	200 mL	

★ 用户自备仪器及耗材：

- ✓ 离心转速可达 13,000xg 的小型离心机
- ✓ 可适配 15mL 且离心速度可达 4,000xg 的吊篮式离心机
- ✓ 涡旋仪、冰盒
- ✓ 温度可达 65°C 的孵育装置
- ✓ 无酶吸头、1.5mL 及 2mL 离心管
- ✓ 无水乙醇、70%乙醇（由无酶水配置）、14.3 M 2-巯基乙醇
- ✓（可选）真空抽滤装置、DNase I 消化套装（货号 E1091）、酵母 tRNA
- ✓（可选）无酶 20 号注射器（针孔 0.9mm）

★ 提取步骤-1mL 新鲜全血样品

1. 1 体积新鲜的全血（最大不能超过 1 mL）加 5 体积的 1 x ERL Buffer（10x 浓缩液需提前稀释至 1x），涡旋混匀。例如：1 mL 全血加 5 mL 1 x ERL Buffer。
注意：10 x ERL Buffer 在实验前需要先用无菌水稀释成 1 x ERL Buffer。
2. 冰浴 15min，期间轻柔颠倒混匀 2 次。当溶液变得半透明时，即红细胞已被裂解。如有需要，可将冰浴时间延长至 20min。
3. 4°C 450xg 离心 10min 沉淀白细胞，完全去除溶解红细胞的上清液。
4. 使用血液样品 2 倍体积的 1 x ERL Buffer 洗涤白细胞团，例如使用 1mL 血液样品，加 2mL 1 x ERL Buffer。

5. 4°C 450xg 离心 10min 沉淀白细胞，完全去除溶解红细胞的上清液。
6. 加 100μL Nuclease-free Water，涡旋重悬白细胞团。
7. 样品体积 < 500μL，加入 350μL MRC Lysis Buffer；样品体积 0.5-1 mL，加 600μL MRC Lysis Buffer，样品加了 MRC Lysis Buffer 混匀后可保存在-70°C。
注意：每 1mL MRC Lysis Buffer 在使用前需加入 20μL 2-巯基乙醇。2-巯基乙醇对于灭活内源性 RNase 至关重要。混合液可室温放置 2 周。
8. 使用无酶的 20 号注射器（针孔 0.9mm）或使用移液枪吸打至少 5-10 次完全裂解样品。加入等体积的 70%乙醇，涡旋混匀。
9. 将 HiBind® RNA Mini Column 套入收集管中，转移步骤 8 的混合液（每次转移的混合液≤700μL），室温 13,000xg 离心 15s，弃滤液。
10. 重复步骤 9，直至所有混合液都结合到 HiBind® RNA Mini Column 上。

可选 DNase I 消化步骤（需另购 DNase I Set 货号 E1091）

如需使用 DNase I 对 DNA 污染进行消解，请参考第 5 页“DNase I 消化步骤”。如无需进行 DNA 消解，请接着按第 11 步操作；

11. 将 HiBind® RNA Mini Column 套入收集管中，加入 300μL RNA Wash Buffer I 至 HiBind® RNA Mini Column 中，10,000xg 离心 30s，弃滤液。
12. 将 HiBind® RNA Mini Column 套回收集管中，加入 500μL RNA Wash Buffer II（已加无水乙醇正确稀释）至结合柱中，10,000xg 离心 30s，弃滤液。
注意：RNA Wash Buffer II 在使用前必须按照说明书用无水乙醇进行稀释。
13. 重复步骤 12。
14. 将 HiBind® RNA Mini Column 套回收集管中，13,000xg 离心空甩 2min。
15. 将 HiBind® RNA Mini Column 套入新的 1.5mL 离心管中，加入 30-50 μL Nuclease-free Water 至结合柱中，13,000xg 离心 1min 洗脱 RNA，产物放置-70°C 保存。
注意：以下操作可能帮助提高 RNA 产量：
 - 使用前将 Nuclease-free Water 70°C 预热；
 - 室温静置 5min；

- 增加洗脱液的体积；
- 用新的 Nuclease-free Water 进行二次洗脱（可增加产量，但会导致浓度降低）
- 将第一次洗脱出的 Nuclease-free Water 重新加回到柱子中进行二次洗脱（可增加洗脱浓度但不增加洗脱体积）

★ 提取步骤-X-press < 150μL 新鲜全血样品

1. 吸取 150μL 全血样品到 1.5mL 或 2mL 的离心管中。
2. 加入 350μL MRC Lysis Buffer/2-巯基乙醇，涡旋混匀。
注意：每 1mL MRC Lysis Buffer 在使用前需加入 20μL 2-巯基乙醇。2-巯基乙醇对于灭活内源性 RNase 至关重要。混合液可室温放置 2 周。
3. 65°C 孵育 10min，期间颠倒两次混匀样品。
4. 室温 13,000xg 离心 3min，转移 450μL 上清到新的离心管中。
5. 加 250μL 无水乙醇到混合液里，涡旋混匀。
6. 将 HiBind® RNA Mini Column 套入收集管中，转移步骤 5 的混合液（每次转移的混合液 ≤ 700μL），室温 13,000xg 离心 15s，弃滤液；
7. 重复步骤 6，直至所有混合液都结合到 HiBind® RNA Mini Column 上；
8. 接着按照第 3 页“1mL 新鲜全血样品提取方案”步骤 11-15 继续操作。

★ 提取步骤-无细胞体液样品

1. 转移不超过 5mL 的样品到样品中，室温 5,000xg 离心 20min。
2. 把上清转移到 0.22μm 的过滤器中过滤去除细胞。去除细胞从而避免细胞核酸污染。
(可选)：一些样品可能含有很少的病毒粒子。需要使用超滤柱进行浓缩：可以使用 Centricon® 100 (Amicon, 2 ml, Cat# 4211), Ultrafree® CL (Millipore, 2 ml, Cat# UFC4 THK 25)。根据各个制造商的流程离心收集 3-5 mL 的样品，以获得 10-20 倍浓度的样品，最终体积 200-300μL。
3. 吸取 150μL 样品到 1.5mL 或 2mL 的离心管中，加入 750μL MRC Lysis

Buffer/2-巯基乙醇和 5 μ L 酵母 tRNA (可选), 然后加入 600 μ L 无水乙醇, 涡旋混匀。

注意: 每 1mL MRC Lysis Buffer 在使用前需加入 20 μ L 2-巯基乙醇。

4. 将 HiBind[®] RNA Mini Column 套入收集管中, 转移步骤 3 的混合液 (每次转移的混合液 \leq 700 μ L), 室温 13,000xg 离心 15s, 弃滤液;
5. 重复步骤 4, 直至所有混合液都结合到 HiBind[®] RNA Mini Column 上;
6. 接着按照第 3 页 “1mL 新鲜全血样品提取方案” 步骤 11-15 继续操作。

★ DNase I 消化步骤 (可选步骤)

用户自备试剂 : DNase I Digestion Set (货号 E1091)

按照上述《1mL 新鲜全血样品》完成 1-10 步、《X-press < 150 μ L 新鲜全血样品》完成 1-6 步或《无细胞体液样品》按成 1-6 步后, 请按以下步骤操作:

1. 每一个 HiBind[®] RNA Mini Column, 按照按下表配置 DNase I 溶液:

溶液名称	每份配量
Digestion Buffer	73.5 μ L
RNase-Free DNase I	1.5 μ L
总量	75 μ L

重要提示:

- ✓ DNase I 非常敏感且易发生物理变性, 切勿大力涡旋 DNase I 溶液。建议轻柔颠倒离心管进行混匀;
 - ✓ DNase I 混合液需现配现用;
 - ✓ 请使用套装内配套的 Digestion Buffer 消化液, 其他消化液与膜上消化操作不配套, 可能会降低 RNA 产量及纯度;
 - ✓ 全部操作均在室温下进行, 请谨慎且尽量快速地操作。
2. 将 HiBind[®] RNA Mini Columns 套入 2ml 收集管中, 往 HiBind[®] RNA Mini

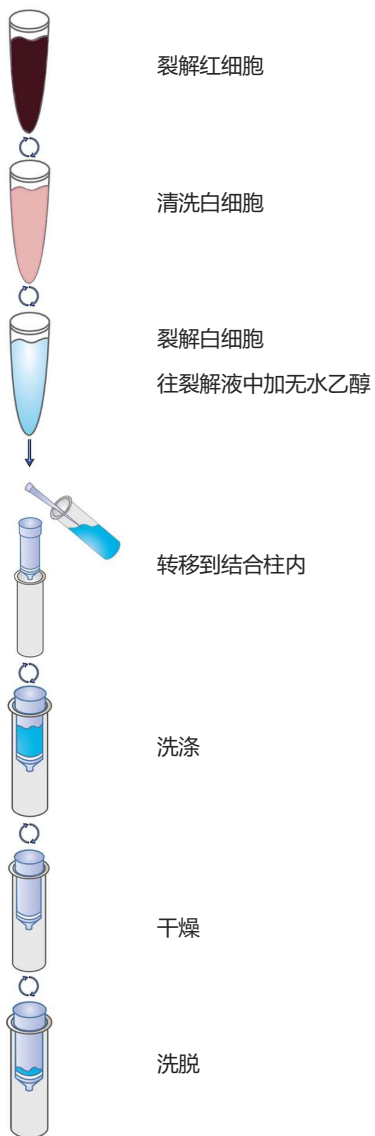
Column 加入 300 μ L RNA Wash Buffer I, 10,000 \times g 室温离心 1min, 弃掉滤液。

3. 将配置好的 75 μ L 的 DNase I 溶液, 转移至 HiBind[®] RNA Mini Column 膜的正中央, 切勿打到结合柱壁。
4. 室温静置 15min。
5. 加入 500 μ L RNA Wash Buffer I 至 HiBind[®] RNA Mini Column 中, 室温静置 2min, 10,000xg 离心 1min, 弃滤液。
6. 将 HiBind[®] RNA Mini Column 套回收集管中, 加入 500 μ L RNA Wash Buffer II (已加无水乙醇正确稀释) 至结合柱中, 10,000xg 离心 1min, 弃滤液。
注意: RNA Wash Buffer II 在使用前必须按照说明书用无水乙醇进行稀释。
7. 重复步骤 6。
8. 将 HiBind[®] RNA Mini Column 套回收集管中, 10,000xg 离心空甩 2min。
9. 将 HiBind[®] RNA Mini Column 套入新的 1.5mL 离心管中, 加入 30-50 μ L Nuclease-free Water 至结合柱中, 10,000xg 离心 2min 洗脱 RNA, 产物放置-70 $^{\circ}$ C 保存。

注意: 以下操作可能帮助提高 RNA 产量:

- 使用前将 Nuclease-free Water 70 $^{\circ}$ C 预热;
- 室温静置 5min;
- 增加洗脱液的体积;
- 用新的 Nuclease-free Water 进行二次洗脱 (可增加产量, 但会导致浓度降低)

★ 提取步骤示意图



★ 产品信息卡



更多详情, 请扫描左方二维码获取原文说明书

中文翻译仅供辅助阅读



常见问题合集及操作注意事项

请扫描左方二维码获取



中国总代理: 广州飞扬生物工程有限公司

技术支持: 020-32051125

企业 QQ: 800848200 (人工客服在线)

中文网站: **omegabiotek.com.cn**



如需查询代理商名录, 请关注“飞扬生物”微信号获取

售后保障服务说明

为确保您所使用的试剂为正品来源, 请从使用单位所在地指定代理商处购买 Omega bio-tek 产品。由其他渠道购买或任一标签信息(应包括货号、条形码、完整 Lot 号、失效日期)缺失的试剂盒, 我司恕不提供任何质量保证及售后服务。