

## M5 RNAPure Circulating Reagent 游离 RNA (血清血浆尿液等)提取试剂使用说明书

产品名称	单位	货号
M5 RNAPure Circulating Reagent	50ml	MF318-01

### 【储存条件】

2~8°C 保存。

### 【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°C 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°C 可放置一个月以上。
5. 保存在 75%乙醇中的 RNA 沉淀，2-8°C 可以保存一周，-20°C 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：MF110）对 RNA 进行处理。

**【操作步骤】**

1. 取 200  $\mu$ 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°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°C 沉淀过夜，效果更佳。

6. 4°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°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  $\mu$ l 无 RNase 的水，充分溶解 RNA，得到的 RNA 保存在-70°C，防止降解。

**注意：**沉淀不要过分干燥，以免难于溶解。

**【备注】**

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。