

产品使用说明书

血清/血浆 RNA 分离试剂盒

Serum/Plasma RNA Isolation Kit

Cat SPRNA50A-1
SPRNA30A-1

辽宁润基生物科技有限公司

Liaoning Rengen Biosciences Co.,Ltd

Version 1.0

01/6/2018

目 录

保存和应用	2
产品介绍	3
试剂盒组成和说明	3
注意事项.....	4
操作方法	5
常见问题.....	7
技术支持	8

保存与应用

【保存条件】

本试剂盒低温下运输，室温或 2-8℃下保存至少一年（按照试剂盒不同成分分别保存），使用前请仔细阅读说明书。

【应用范围】

本产品只用于科学研究，不能用于临床诊断。

产品介绍

近年来，液体活检作为一种新的非侵入式主要检测血液中循环肿瘤细胞（Circulating Tumor Cell, CTC）和循环肿瘤 DNA(Circulating Tumor DNA, ctDNA)，获取患者肿瘤病变信息，用以帮助诊断治疗。研究表明，血清或血浆除了游离的蛋白质结合 RNAs 外，还含有细胞分泌的胞外膜性囊泡（包括外泌体），内容物中富含不同类型 RNA（mRNA 和 microRNA 等）。microRNA(miRNA)在基因转录和转录后调节方面起重要作用，与疾病的发生、发展密切相关，因此，某些外泌体 miRNA（exo-RNA)可以作为疾病的新的治疗靶标和诊断生物标记物。

血清或血浆中游离核酸（Free-circulating nucleic acids）通常是小片段（DNA<1000 bp 或 RNA<1000 nt），游离 miRNAs 可潜在作为疾病（如肿瘤）标志物，用于临床诊断及用药指导和病情评估。血清或血浆中游离核酸浓度通常较低，并且不同个体不同状态下含量不同。

血清/血浆 RNA 分离试剂盒采用酚/胍盐裂解液提取血清/血浆中总 RNA（含有 mRNAs 和 miRNAs，通过特异性结合核酸的离心吸附柱和独特的缓冲液系统方便、快捷地纯化、洗脱 RNA，可直接用于下游应用，如 realtime RT-PCR，Microarray 基因表达谱，NGS 测序等。

试剂盒组成和说明

产品组成 Cat# SPRNA50A-1	含量	保存条件
裂解液 A (Lysis Buffer A)	15ml	2-8℃
裂解液 B (Lysis Buffer B)	6ml	RT
洗涤液 A (Wash Solution A)*	15ml×2	RT
洗脱液 A (Elution Solution A)	5ml	RT
吸附柱（Spin Columns）/收集管（Collection Tubes 2.0ml）	50 套	RT
1.5ml 离心管（Centrifuge Tubes 1.5ml）	50 个	RT

产品组成 Cat# SPRG30A-1	含量	保存条件
裂解液 A (Lysis Buffer A)	10ml	2-8°C
裂解液 B (Lysis Buffer B)	5ml	RT
洗涤液 A (Wash Solution A)*	15ml	RT
洗脱液 A (Elution Solution A)	5ml	RT
吸附柱 (Spin Columns) / 收集管 (Collection Tubes 2.0ml)	30 套	RT
1.5ml 离心管 (Centrifuge Tubes 1.5ml)	30 个	RT

*使用前先在每瓶洗涤液 A (Wash Solution A) 中加入 35ml 无水乙醇，混匀，并在瓶标签上标记“√”，每次使用后立即盖紧瓶盖。

【注意事项】

1. 除了裂解液 A (Lysis Buffer A) 保存在 2-8°C 外，其余试剂盒和耗材保存在室温下(15-25°C)，自购买之日起有效期至少 1 年。裂解液 D 在使用前检查是否有盐沉淀，建议在使用前 37°C 水浴 10 分钟，混合均匀，无沉淀，溶液清澈。

2. 样品使用量的确定

微量样品 RNA 提取试剂盒技术指标	
吸附柱最大容量	700µl
最小洗脱体积	20µl
样本体积	最大量 200µl

3. 所有的样品使用前请平衡到室温(15-25°C)。

4. 第一次使用试剂盒时，请按照试剂瓶上的提示在洗涤液 A 中添加无水乙醇。

5. 需自备试剂：无水乙醇。

6. 预防 RNase 污染，应注意以下几方面：

a) 经常更换新手套，防止皮肤表面的 RNase 污染。

b) 使用无 RNase 的塑料制品和枪头避免交叉污染。

c) RNA 释放后在裂解液中不会被 RNase 降解，但提取后继续处理过程中应使用不含 RNase 的塑料盒或玻璃器皿，玻璃器皿可在 150°C 烘烤 4h，塑料器皿可在 0.5M NaOH 中浸泡 10min，然后用水彻底清洗，再灭菌，即可去除 RNase。

d) 配制溶液应使用无 RNase 的水（将水加入到干净的玻璃瓶中，加入 DEPC 至终浓度 0.1% (v/v)，放置过夜，高压灭菌）。

操作方法

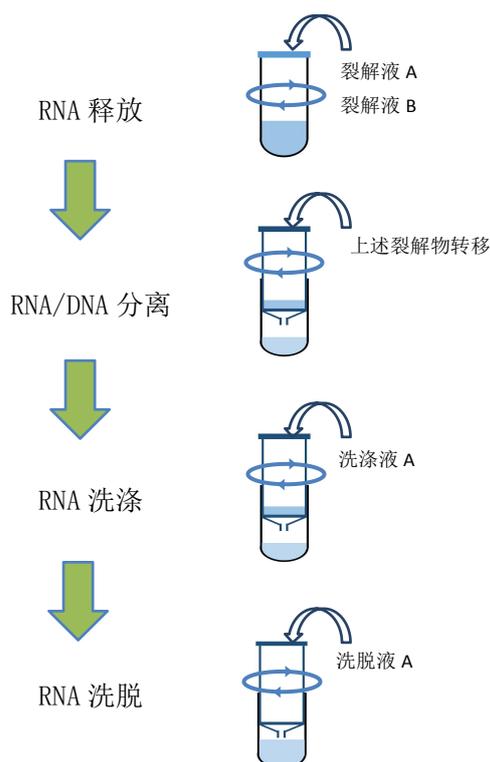


图 1 简单操作流程图

使用前先在每瓶洗涤液 A (Wash Solution A) 中加入 35ml 无水乙醇，混匀，并在瓶标签上标记“√”，每次使用后立即盖紧瓶盖。

1. RNA 释放

取血清或血浆样品， $12,000\times g$ 离心 20min，去除细胞碎片。取上清 200 μ l 到 2.0ml 的离心管中。

a) 加入等体积 (200 μ l) 的裂解液 A，涡旋振荡 30sec，室温放置 5min，使得核酸蛋白复合物完全分离。

b) 室温 $14,000\times g$ 离心 10min，取上清，转入一个新的无 RNase 的离心管中。

c) 加入 100 μ l 裂解液 B，盖好管盖，剧烈振荡 15sec，室温放置 5min。室温 $14,000\times g$ 离心 15min，样品会分成三层：黄色的有机相，中间层和无色的水相，RNA 主要在水相中，把水相转移到新管中，进行下一步操作。

d) 量取转移液的体积，缓慢加入等体积的无水乙醇（如：300 μ l 的转移液加

300 μ l 无水乙醇)，混匀（此时可能会出现沉淀）。

2. RNA 分离

将得到的溶液和沉淀一起转入吸附柱中（吸附柱放入收集管中），室温放置 2min，室温 14,000 \times g 离心 30sec，离心后弃掉流出液，保留吸附柱。

3. RNA 洗涤

向吸附柱加入 500 μ l 洗涤液 A，14,000 \times g 离心 30sec，倒掉收集管中的废液，将吸附柱放入收集管中。重复洗涤 1 次，14,000 \times g 离心 2min，倒掉废液，将吸附柱置于室温放置数分钟，以彻底晾干吸附材料中残余的漂洗液。

注意：这一步的目的是将吸附柱中的残余的洗涤液去除，洗涤液中的乙醇的残留会影响后续的酶反应（酶切、PCR 等）实验。

4. RNA 洗脱

将吸附柱转入 1.5 ml 离心管中（试剂盒提供），向吸附柱中间位置悬空滴加 50-200 μ l 洗脱液 A，室温放置 2-5min，14,000 \times g 离心 2min，将溶液收集到离心管中。

注意：洗脱液体积不应小于 50 μ l，体积过小影响回收效率，为增加 RNA 的得率，可将离心得到的溶液再加入吸附柱中，室温放置 2min，14,000 \times g 离心 2min。洗脱液的 pH 对于洗脱效率有很大影响，若用水做洗脱液应保证 pH 值在 7.0-8.5 范围内，pH 值低于 7.0 会降低洗脱效率，且 RNA 产物最好立即使用，或保存在-80 $^{\circ}$ C，以防止 RNA 降解。

相关产品	目录号
血清/血浆 DNA 分离试剂盒	SPDNA50A-1/SPDNA30A-1
血清/血浆 miRNA 分离试剂盒	SPmiR50A-1/SPmiR30A-1

常见问题

Q1: 提取血清或血浆 RNA 时，需要在什么温度下离心？

A1: 所有离心步骤须在室温下操作，在 4°C 时离心会降低 DNA 的产量。

Q2: 提取的 RNA 下游应用时，如 RT-PCR 不是很好？

A2: 洗脱的 RNA 中含有乙醇和/或有较多盐离子污染，会抑制 PCR 反应。所以，在最后洗涤时，将吸附柱置于室温放置数分钟，以彻底晾干吸附材料中残余的洗涤液。

技术支持

关于查看详细产品信息和下载相关资料请登陆：<http://www.rengenbio.com>

同时可通过电话或 Email 接触技术支持。

公司：辽宁润基生物科技有限公司

地址：辽宁省沈阳市经济技术开发区十三号路 77 号联东 U 谷 20 号楼

邮编：110027

电话：024-31086590

传真：024-31086589

邮箱：公司信息 info@rengenbio.com

技术支持 support@rengenbio.com

产品订购 order@rengenbio.com

