

产品简介

血液RNA稳定剂是一种液态的低毒的血液保存试剂。它能立即稳定新鲜血液中的RNA，含有该试剂的健康人全血样品可在2-8℃保存5天，或在-20℃或-70℃条件下至少保存三个月；含有该试剂的哺乳动物血液样品可在15-25℃保存2天，2-8℃保存7天，或在-20℃或-70℃条件下至少保存六个月，RNA不会出现明显降解。

如需纯化保存于血液RNA稳定剂的血液样品，请选择RNAprep Pure高效血液总RNA提取试剂盒（客户需另购，目录号：DP443）并结合本说明书中的优化流程进行操作。提取的总RNA纯度高，可用于RT-PCR、Real Time RT-PCR、芯片分析、Northern Blot、Dot Blot、polyA 筛选、体外翻译、RNase 保护分析和分子克隆等多种下游实验。

提取得率参考

纯化保存于血液RNA稳定剂的血液样品时，使用RNAprep Pure高效血液总RNA提取试剂盒并结合本说明书中的优化流程提取的RNA得率如下：

材料	RNA得率
健康人全血（300 μl）	0.5–2 μg*
大鼠全血（100 μl）	2–6 μg
小鼠全血（100 μl）	4–8 μg

*健康人全血的RNA产量高度依赖于供体，单次产量可能有所变动。

预防RNase污染，应注意以下几方面

- 经常更换新手套。因为皮肤经常带有细菌，可能导致RNase污染。使用无RNase的塑料制品和枪头避免交叉污染。
- 玻璃器皿可在150℃烘烤4 h，塑料器皿可在0.5 M NaOH中浸泡10 min，然后用水彻底清洗，再灭菌，即可去除RNase。
- 配制溶液应使用RNase-Free ddH₂O。（将水加入到干净的玻璃瓶中，加入DEPC至终浓度0.1%(V/V)，混匀后放置过夜，高压灭菌。）

操作步骤

I 血液样品保存：

- 使用前请确定血液RNA稳定剂储存于室温。取新鲜抗凝血液按1:3的比例加入血液RNA稳定剂（如取300 μl健康人新鲜全血加入900 μl血液RNA稳定剂或100 μl哺乳动物新鲜血液加入300 μl血液RNA稳定剂）。

注意：保存血液样品时，请立即在新鲜抗凝血液中加入3倍体积的血液RNA稳定剂。如需处理更大量的血液样本，请选择合适规格的耗材进行操作。

- 立即盖上管盖，上下颠倒混匀8-10次。含有血液RNA稳定剂的人血液样品可在2-8℃保存5天，或在-20℃条件下至少保存三个月；含有血液RNA稳定剂的哺乳动物血液样品可在15-25℃保存2天，2-8℃保存7天，或在-20℃条件下至少保存六个月。

注意：含有血液RNA稳定剂的血液样品必须在室温放置2 h以上，以使血液样品充分裂解。该步骤可在低温保存样本前或完成保存之后进行。

II 血液样品中RNA纯化：

注意：如需纯化血液样品（保存于血液RNA稳定剂）中的RNA，请选择RNAprep Pure高效血液总RNA提取试剂盒（客户需另购，目录号：DP443）并按照以下流程进行操作。

- 纯化保存于血液RNA稳定剂的血液样品时，请先将样品室温放置或37℃水浴使其升至室温。然后6,600 rpm (~4000×g)离心10 min，用移液器吸弃上清液，取沉淀进行以下操作。
- 向沉淀中加入1 mL RNase-Free ddH₂O，用移液器吹打使沉淀完全溶解。
- 6,600 rpm (~4000×g)离心10 min。用移液器吸弃上清液。
注意：请将上清去除彻底，否则会影响到RNA与CR4膜的结合。
- 缓慢加入240 μl悬浮液RSB，用移液器反复吹打使沉淀溶解完全。
注意：该步骤沉淀较难溶解，请吹打至沉淀完全溶解，否则会降低RNA得率。
- 向溶解后的样品中加入200 μl RLH（使用前请加入β-巯基乙醇），然后加入20 μl Proteinase K溶液，充分颠倒混匀，55℃孵育10 min，其间颠倒混匀2-3次，溶液应变清亮。
注意：请不要预先将裂解液RLH和Proteinase K溶液混合。如孵育后溶液未彻底变清亮，请延长孵育时间至溶液清亮为止。
- 将所有溶液转移至过滤柱CS中(过滤柱CS放在收集管中)，12,000 rpm (~13,400×g)离心2 min，小心吸取收集管中的上清至新RNase-Free的离心管中，吸头尽量避免接触收集管中的细胞碎片沉淀。



TIANGEN 官方微信, 专业服务助力科研:

- 可视化操作指南
- 技术公开课合辑
- 全线产品查询
- 在线专家客服
- 微信直播课堂
- 最新优惠活动



Order: 010-59822688
Toll-free: 800-990-6057 / 400-810-6057
TIANGEN BIOTECH (BEIJING) CO., LTD

版本号: DP201101X

RNA Lock Reagent

RNA Lock 血液RNA稳定剂

目录号: DP440

产品内容

产品组成	DP440-01	DP440-02
血液RNA稳定剂 (RNA Lock Reagent)	20 ml	100 ml
悬浮液RSB(Buffer RSB)	5 ml	25 ml
Proteinase K	500 μ l	2 ml

储存条件

以上试剂均室温(15-25°C)保存。

- 加入0.5倍上清体积的无水乙醇(通常为220 μ l), 混匀(此时可能会出现沉淀), 将得到的溶液和沉淀一起转入吸附柱CR4中, 12,000 rpm(\sim 13,400 \times g)离心1 min, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱CR4放回收集管中。
 - 向吸附柱CR4中加入350 μ l 去蛋白液RW1H, 12,000 rpm(\sim 13,400 \times g)离心 30-60 sec, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱CR4放回收集管中。
 - DNase I 工作液的配制: 取10 μ l DNase I 储存液放入新的RNase-Free离心管中, 加入70 μ l RDD溶液, 轻柔混匀。(DNase I储存液的配制: 将DNase I干粉(1500 U)溶解在550 μ l RNase-Free ddH₂O中, 轻柔混匀, 分装后-20°C贮存(可保存9个月)。
注意: 解冻后的DNase I储存液保存于4°C(可保存6周), 避免反复冻融。
 - 向吸附柱CR4中央加入80 μ l的DNase I 工作液, 室温放置15 min。
 - 向吸附柱CR4中加入350 μ l 去蛋白液RW1H, 12,000 rpm(\sim 13,400 \times g)离心30-60 sec, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱CR2放回收集管中。
 - 向吸附柱CR2中加入500 μ l漂洗液RW (使用前请先检查是否已加入乙醇), 室温静置2 min, 12,000 rpm(\sim 13,400 \times g)离心2 min, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱CR4放回收集管中。
 - 重复步骤12。
 - 12,000 rpm(\sim 13,400 \times g)离心2 min, 倒掉废液。将吸附柱CR4置于室温放置3 min, 以彻底晾干吸附材料中残余的漂洗液。
注意: 此步骤目的是将吸附柱中残余的漂洗液去除, 离心后将吸附柱CR4在室温放置片刻, 以充分晾干。如果有漂洗液残留, 可能会影响后续的RT等实验。
 - 将吸附柱CR4转入一个新的RNase-Free离心管中, 加入30-50 μ l RNase-Free ddH₂O室温放置2 min, 12,000 rpm(\sim 13,400 \times g)离心2 min, 得到RNA溶液。
注意: 洗脱缓冲液体积不应少于30 μ l, 体积过小影响回收效率。RNA溶液请于-70°C保存。
- III 血液样品中基因组DNA纯化:
- 如需纯化血液样品(保存于血液RNA稳定剂)中的基因组DNA, 请向Tiangen公司索取实验操作流程。