

: RP151208

# RNAprep Pure Hi-Blood Kit

## RNAprep Pure RNA

**DP443**

	<b>DP443 (50 preps)</b>
10 × 红细胞裂解液H (10 × Red cell Lysis Buffer H)	60 ml
裂解液RLH (Buffer RLH)	30 ml
去蛋白液RW1H (Buffer RW1H)	24 ml
漂洗液RW (Buffer RW)	12 ml
RNase-Free ddH <sub>2</sub> O (瓶装)	15 ml
RNase-Free吸附柱CR4 (含2 ml收集管)	50 套
RNase-Free Spin Column CR4 in a 2 ml Collection Tube	
RNase-Free过滤柱CS (含2 ml收集管)	50 套
RNase-Free Filtration Column CS in a 2 ml Collection Tube	
DNase I (1500 U)	1 支
缓冲液RDD (Buffer RDD)	4 ml
RNase-Free ddH <sub>2</sub> O (管装)	1 ml
RNase-Free离心管 (1.5 ml) (RNase-Free Centrifuge Tubes 1.5 ml)	50 个

加入β-巯基乙醇的裂解液RLH 4℃可放置一个月 DNaseI 缓冲液RDD 2-8℃保存  
其他试剂室温 15-25℃ 保存

---

本试剂盒可从新鲜全血中高效提取总RNA 可处理不同物种以及多种抗凝剂全血样品 吸附柱中采用的硅基质材料为本公司特有新型材料 高效 专一吸附RNA 可最大限度去除杂质蛋白 提取的RNA可用于RT-PCR Real Time RT-PCR 芯片分析 高通量测序 Northern Blot Dot Blot Poly A 筛选 体外翻译 RNase 保护分析和分子克隆等多种下游实验

## RNase

1. 经常更换新手套 因为皮肤经常带有细菌 可能导致RNase污染
2. 使用无RNase的塑料制品和枪头避免交叉污染
3. RNA在裂解液RLH中时不会被RNase降解 但提取后继续处理过程中应使用不含RNase的塑料和玻璃器皿 玻璃器皿可在150°C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
4. 配制溶液应使用RNase-free ddH<sub>2</sub>O (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 )

- 
- 1 操作前在RLH中加入β-巯基乙醇至终浓度1% 如1 ml RLH中加入10 μl β-巯基乙醇 此裂解液最好现用现配 配好的 RLH 4 °C可放置一个月 裂解液RLH在储存时可能会形成沉淀 如果有沉淀出现 请加热溶解后使用
  - 2 第一次使用前应在漂洗液RW与去蛋白液RW1H中加入无水乙醇 加入量请参见瓶上标签
  - 3 人类的血液或体液可能有潜在的感染性 所以如果对人类的全血进行处理 请注意做好防护措施
  - 4 本试剂盒最多能处理1.5 ml健康的人类全血(健康人的全血中白细胞含量为 最多4000-7000个白细胞/ μl血液) 如果血液中白细胞的含量较高 可按比例减少血液的用量 本试剂盒最多可处理的白细胞数量为  $1 \times 10^7$
  - 5 在白细胞裂解后 该说明书中的所有步骤需在室温(15-25°C)进行 操作速度越快越好
  - 6 细胞溶解物(在裂解液RLH中)可以存放在-70°C 待使用时 将其置于37°C 孵育10 min 以保证所有的盐都溶解 然后进行操作步骤第7步
  - 7 本试剂盒不适用于冻存的全血
-

## DNase I

将DNase I干粉(1500 U)溶解在550  $\mu$ l RNase-Free ddH<sub>2</sub>O中 轻柔混匀 分装后-20°C  
贮存(可保存9个月) ( **DNase I** **TIANGEN** )

**-20** **DNase I** **4 ( 6 )**

1. 红细胞裂解液的稀释 根据处理血液样品的体积选取适当体积的10×红细胞裂解液H (例如待处理的血液样品体积为200  $\mu$ l 则取140  $\mu$ l 10×红细胞裂解液H) 用RNase-Free ddH<sub>2</sub>O稀释至1×红细胞裂解液H
2. 向1体积人类全血中加5倍体积1×红细胞裂解液H(需自备合适的干净管子)

**3/4** **1×** **H** **6** **1×**  
**H**

3. 在冰上孵育10-15 min 在孵育过程中涡旋振荡混匀2次

**20 min**

4. 4°C 2,100 rpm (~400×g) 离心10 min 将上清完全去除
5. 向白细胞沉淀中加入1×红细胞裂解液H (加入1×红细胞裂解液H的体积是第1步中全血用量的2倍) 重悬细胞
6. 4°C 2,100 rpm (~400×g) 离心10 min 将上清完全去除

**RNA**

**RNA**

7. 向白细胞沉淀中加入裂解液RLH (使用前请加入 $\beta$ -巯基乙醇) 具体加量按照下表进行  
涡旋或使用移液器混匀

**RLH**

<b>RLH (<math>\mu</math>l)</b>	<b>(ml)</b>	
350	多至0.5	多至 $2 \times 10^6$
600	0.5-1.5	$2 \times 10^6$ 至 $1 \times 10^7$

