

HiPure Blood RNA/DNA Kit

血液 RNA 和 DNA 共提试剂盒

产品简介

本产品适合于从 1.0~2.0ml 血液或体液样品同时提取 RNA 和 DNA。试剂盒基于硅胶柱纯化技术，提取过程中无需使用有毒的酚氯仿抽提，整个提取过程只需 60 分钟。得到的 RNA 可直接用于 RT-PCR、Northern Blot、Poly A 纯化，核酸保护和体外翻译等实验。得到的 DNA 可直接用于 PCR，Southern 杂交等。

产品组份

产品编号	R5118-01	R5118-02
纯化次数	10 次	50 次
HiPure RNA Mini Columns I	10	50
HiPure DNA Mini Columns III	10	50
2ml Collection Tubes	30	150
RNASafer LS Reagent	80 ml	400 ml
RTL Lysis Buffer	10 ml	30 ml
Proteinase K Solution	0.6 ml	2.5 ml
RNA Digestion Buffer	3 ml	15 ml
Buffer GW1	13 ml	44 ml
Buffer RW2*	10 ml	50 ml
RNase Free Water	30 ml	120 ml
Elution Buffer	1.8 ml	15 ml

版本号：202401

保存条件

HiPure Blood DNA/RNA Kit 可在室温下(15-25°C)干燥保存 18 个月。Proteinase K Solution 室温运输，长期保存时，建议保存于 2~8°C。

准备事项

- 在 Buffer RW2 中，加入 4 倍体积无水乙醇，于室温保存。
- 在 Buffer GW1 中，加入适量的体积无水乙醇，于室温保存。
- 提升裂解液的变性能力：使用前分装适量的 Buffer RL，按每 1ml RTL Lysis Buffer 加入 20 μ l β -巯基乙醇、1M DTT 或 1M TCEP，混合液室温可保存 1 周。TCEP，中文名为三(2-羧乙基)膦酸盐，是一种高效、无异味、不含硫醇基还原剂，可高效灭活核酸酶和防止多酚氧化，可代替 2-巯基乙醇，提高 RNA 的完整性和得率。

实验步骤 (0.5~2ml 血液或体液)

1. 在 10~15ml 离心管中，加入 0.5~2.0ml 抗凝血液或液体样品，加入 4 倍体积 RNASafer LS Reagent，颠倒混匀 10~15 次，室温放置 30 分钟，其间颠倒混匀数次。

该裂解液可室温(15-25°C)保存 3 天，2-8°C 保存 7 天，或-20°C/-80°C 保存 12 个月以上，RNA 不会降解。受提取试剂盒中柱子吸附力限制，健康人体血液最大处理量不要超过 2.0ml。由于血液 RNA 含量比较低，建议最低不低于 1ml，以获得充足 RNA 用于下游检测。处理其它哺乳动物血液时，因白细胞含量较高，血液用量建议在 1.0ml。鸟类等红细胞带核的血液 (~100 μ l)，用灭菌水先稀释 10 倍后再加入 RNASafer LS Reagent。

处理冻存血液：若冻存血液只有 1-2ml 时（目测），在血液解冻前，直接加入 3-4 倍的 RNASafer LS Reagent，室温颠倒混匀直接样品完全解冻。提前加入 RNASafer LS Reagent 可以防止血液在解冻过程中因细胞破解时产生的 RNA 降解。

2. 取出保存样品，室温静置 2 小时恢复至室温（室温保存样品无需静置）。
3. 室温下，3,000~5,000 \times g 离心 10 分钟收集 RNA 沉淀，倒弃上清液。
4. 加入 2.0 ml RNase Free Water 至沉淀中，剧烈涡旋 10 秒。室温下，3,000-5,000 \times g 离心 10 分钟收集沉淀，倒弃上清液。

5. 短暂离心收集管壁上的液滴，用移液枪吸尽全部残液。
6. 加入 500 μ l RTL Lysis Buffer 至样品中，涡旋 10 秒，转移全部裂解液至 1.5ml 离心管中。
 - 1~1.5ml 新鲜的抗凝血或 0.3~0.5ml 骨髓样品，可以用红细胞裂解液或淋巴细胞分离液制备得到淋巴细胞或白细胞沉淀，吸弃多余的残液，余下不超过 50 μ l 残液和淋巴细胞沉淀，涡旋重悬淋巴细胞，加入 500 μ l RTL Lysis Buffer，涡旋 10 秒，然后再用一次性的注射器(1ml)反复吸打 5-10 次匀浆样品，然后按第 7 步进行操作。
7. 加入 200 μ l RNA Digestion Buffer 和 40 μ l Proteinase K，55 $^{\circ}$ C 振荡（900-1200rpm）温育 15~20 分钟或直至沉淀全部溶解。
8. 12,000 \times g 离心 3 分钟去除未消化杂质。

过柱纯化 DNA

9. 取 HiPure DNA Mini Column III 柱装在 2ml 收集管中，把上清液转移至 DNA 柱子中。12,000 \times g 离心 2 分钟。
10. 取 HiPure DNA Mini Column III 装在新的收集管中，按第 11-17 步进行 DNA 提取。保存滤液，按第 18-25 步进行 RNA 提取。
11. 加入 500 μ l Buffer GW1(已用乙醇稀释)至 DNA Column 中，12,000 \times g 离心 1 分钟。
Buffer GW1 在使用之前，必须按瓶子标签所示用无水乙醇进行稀释。
12. 倒弃滤液，把柱子装回收集管，加入 500 μ l Buffer RW2(已用乙醇稀释)至柱子。12,000 \times g 离心 1 分钟。
Buffer RW2 在使用之前，必须按瓶子标签所示用无水乙醇进行稀释。
13. 倒弃滤液，把柱子装回收集管，加入 500 μ l Buffer RW2(已用乙醇稀释)至柱子。12,000 \times g 离心 1 分钟。
14. 倒弃滤液，把柱子装回收集管，12,000 \times g 离心 2 分钟甩干柱子的基质。
15. 将 DNA 柱装在 1.5ml 离心管中，加入 100 μ l 预热至 65 $^{\circ}$ C RNase Free Water 或 Buffer TE 至柱子的膜中央。室温静置 5 分钟。12,000 \times g 离心 1 分钟。
16. 再加入 100 μ l 预热至 65 $^{\circ}$ C RNase Free Water 或 Buffer TE 至柱子的膜中央。室温静置 5 分钟。12,000 \times g 离心 1 分钟。

17. 弃去 DNA 柱，把 DNA 保存于 2~8°C 或-20°C。

过柱纯化 RNA

18. 取第 10 步得到滤液，加入 400 μ l 无水乙醇至滤液中，用移液器吸打混匀 3-5 次。

19. 把 HiPure RNA Mini Column I 装在 2ml 收集管中。转移一半的混合液至 RNA 柱中。12,000 \times g 离心 1 分钟。

20. 倒弃滤液，把柱子装回收集管，转移剩余的混合液至柱子。12,000 \times g 离心 1 分钟。

21. 倒弃滤液把柱子装回收集管中，加入 500 μ l Buffer GW1(已用乙醇稀释)至柱子上。12,000 \times g 离心 1 分钟。

Buffer GW1 在使用之前，必须按瓶子标签所示用无水乙醇进行稀释。

22. 倒弃滤液，把柱子装回收集管，加入 500 μ l Buffer RW2(已用乙醇稀释)至柱中，12,000 \times g 离心 1 分钟。

Buffer RW2 在使用之前，必须按瓶子标签所示用无水乙醇进行稀释。

23. 倒弃滤液，把柱子装回收集管，加入 500 μ l Buffer RW2 (已用乙醇稀释)至柱中，12,000 \times g 离心 1 分钟。

24. 倒弃滤液，把柱子装回收集管，12,000 \times g 离心 3 分钟甩干柱子的基质。

25. 将柱子转移至 1.5ml 离心管，加入 50 μ l RNase Free Water 至柱子膜中央，静置 3 分钟。12,000 \times g 离心 1 分钟。把 RNA 保存于-20°C 和-80°C。