



总RNA提取试剂盒 (离心柱法)

目录

1. 产品介绍.....	1
2. 注意事项.....	1
3. 使用流程.....	1
4. 订购信息.....	2

1. 产品介绍

本试剂盒采用离心吸附柱技术和新型的溶液体系,为客户提供一套从动物组织、植物组织、培养细胞、细菌中纯化完整、高质量总 RNA。试剂盒采用独特的缓冲液系统,快速裂解细胞,沉淀蛋白,高效专一吸附核酸分子,再经 DNA 酶 I 处理去除基因组 DNA,最终得到纯度高,完整性好的总 RNA。可用于 RT-PCR、Real-Time PCR、芯片分析、Northern 杂交等多种下游实验。

试剂名称	50 T
RNA裂解液	10ml
β-巯基乙醇	600μl
RNA中和液	20ml
DNase I 缓冲液	2.5ml
DNase I	250μl
RNA洗涤液 I	9ml
RNA洗涤液 II	18ml
无核酸酶水	5ml
RNA吸附柱RP20	50个
收集管	50个

2. 注意事项

- 2.1 使用前检查各组分是否出现沉淀。若有,请轻轻摇晃混合均匀,或37°C水浴重新溶解。
- 2.2 β-巯基乙醇请4°C保存,使用前在RNA裂解液中加入800μlβ-巯基乙醇至终浓度为4%,加入β-巯基乙醇的RNA裂解液于4°C保存,有效期6个月。
- 2.3 戴一次性干净手套和口罩操作,防止皮肤、唾液和实验室用品上存在的RNase污染。
- 2.4 使用无菌无RNase的塑料制品和枪头。
- 2.5 若使用玻璃器皿须经过0.1% DEPC水在37°C下浸泡12小时,然后经过 121°C高压灭菌30分钟,烘干后使用。
- 2.6 配制相关的试剂必须使用经过121°C高压灭菌的0.1% DEPC水。

3. 使用流程

3.1 样品预处理

3.1.1 组织样品

取10-20mg动物组织,置于液氮中研磨成粉末,立即加入200μl RNA裂解液(已加入 β-巯基乙醇),也可将组织置于离心管中,迅速加入200μl RNA裂解液,用普通玻璃匀浆器或者电动匀浆器将组织彻底研磨均匀。

3.1.2 细胞样品

收集1-5 × 10⁶个细胞。对于贴壁细胞,加入200μl RNA裂解液。用移液器反复吹打混匀直至细胞团消化不见为止,转移到干净的离心管内。对于



悬浮细胞: 常规桌面离心机5000rpm (约3056g) 离心5min, 收集细胞, 每 $1-5 \times 10^6$ 个细胞加入200 μ l RNA裂解液。用移液器反复吹打混匀直至看不到细胞团为止。

3.1.3 植物组织样品

将液氮研磨好的粉末立即转移到RNA裂解液中, 按照每10-20mg加入200 μ l RNA裂解液, 用移液器吹打均匀至无明显的粉末团。

3.1.4 细菌样品

用100 μ l新鲜配制的含溶菌酶的TE缓冲液重悬细菌沉淀。革兰氏阳性细菌可使用3mg/ml(终浓度)的溶菌酶, 轻轻混匀, 室温孵育5-10min, 加入200 μ l RNA裂解液, 用枪头吹打混匀; 革兰氏阴性细菌则采用0.4mg/ml(终浓度)的溶菌酶, 轻轻敲打混匀, 室温孵育3-5min。加入200 μ l RNA裂解液, 用枪头吹打混匀。

3.2 RNA 提取

3.2.1 向 3.1 处理好的样品匀浆液中加入 400 μ l RNA 中和液, 混匀。室温放置 3-5min。如果动物组织样品来源比较珍贵, 可以选择裂解物加入 400 μ l RNA 中和液后置于 70°C 加热 5min, 提高 RNA 得率。

3.2.2 室温, 常规桌面离心机 12,000rpm (~13,400 \times g) 离心 1min, 小心吸取上清液到新的 1.5ml 无核酸酶的 EP 管中。

3.2.3 加入 1/2 倍上清体积的无水乙醇, 用移液枪吹打 3-4 次以混匀。

3.2.4 将混合液全部转移到 RNA 吸附柱 RP20 内(吸附柱位于收集管内), 如果混合液体积大于 800 μ l, 需分批加入。每次加入的体积不超过 800 μ l。12,000rpm (~13,400 \times g) 离心 1min, 弃滤液。将 RNA 吸附柱放入收集管中。

3.2.5 向 RNA 吸附柱中加入 600 μ l RNA 洗涤液 I (**已加入无水乙醇**), 12,000rpm (~13,400 \times g) 离心 1min, 弃滤液。将 RNA 吸附柱放入收集管中。

3.2.6 按如下比例配制 DNase I 反应混合液, 并轻轻混匀。

试剂名称	50 μ l
DNase I 缓冲液	45 μ l
DNase I	5 μ l

3.2.7 向 RNA 吸附柱膜中央加入 50 μ l 新鲜配制的 DNase I 反应混合液, 室温静置 15min。

3.2.8 向 RNA 吸附柱中加入 600 μ l RNA 洗涤液 II (**已加入无水乙醇**), 12,000rpm (~13,400 \times g) 离心 1min, 弃滤液。

3.2.9 重复步骤 3.2.8 一次。将 RNA 吸附柱放入收集管中, 12,000rpm (~13,400 \times g) 离心 2min, 目的是甩干管壁上残留的 RNA 洗涤液 II, 避免残留的乙醇影响下游实验。

3.2.10 将 RNA 吸附柱转移至洗脱管中, 向 RNA 吸附柱膜中央加入 50-100 μ l 无核酸酶水, 室温静置 2min, 12,000rpm (~13,400 \times g) 离心 1min, 即得总 RNA 产物, 如不立即进行下游实验, 将 RNA 保存在 -80°C 备用。

4. 订购信息

产品名称	货号	规格
总RNA提取试剂盒 (离心柱法)	BK0011-01	50 T