

Small RNA提取试剂盒

产品

组分	R1019
溶液ML	50ml
溶液MH	5ml
溶液MP	10ml
溶液MW	12ml
溶液EB	5ml
DEPC处理水	10ml
RNase-free纯化柱	50个
RNase-free离心管	50个
说明书	1份

需要自备试剂

苯酚
氯仿
无水乙醇

产品说明

Small RNA提取试剂盒是东盛以改进的异硫氰酸胍/酚一步法为基础，通过造出不同长度RNA选择性吸附于离心柱内硅基质膜的独特环境，再经过一系列快速的漂洗-离心的步骤，将细胞代谢物、蛋白等杂质去除，最后以RNase free water将纯净RNA (microRNA) 从硅基质膜上洗脱下来。

该试剂盒能高效、准确分离20-200nt的小RNA片段，同时还能进行总RNA提取。操作简便，一个小时即可完成所有操作，提取的RNA无DNA和蛋白质污染，可用于Northern blot analysis, Quantitative, real-time RT-PCR和Microarray analysis

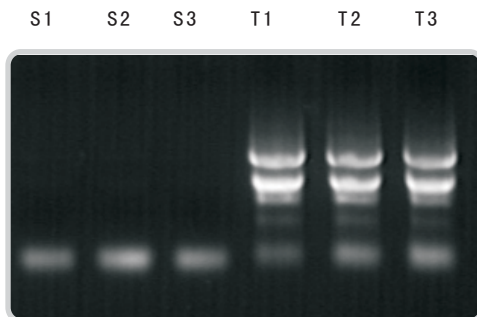
保存条件

裂解液ML2-8℃保存
其他试剂盒组分室温保存。

注意事项

1. 严防操作环境、使用的容器、耗材和试剂的RNase污染。操作过程中要勤换手套。
2. 使用本产品提取的RNA一般不含有DNA污染。极少情况下（与组织pH值相关），如果有DNA污染必须去除，则可以用
3. RNase-free的DNase处理样品。
4. 请严格遵照操作步骤操作。

实例图



上图中lane S1-3为使用small RNA提取试剂盒（R1091）提取的生菜叶中的small RNA电泳图，

lane T1-3是使用TRIzol（R1021/R1022）提取S1-3相同一部位的total RNA。

操作步骤

第一次使用前应在溶液MP、溶液MW中加入无水乙醇，加入量请参见标签。

1. 样品处理

- A. 组织：将组织在液氮中磨碎。每30-50mg动物组织或者100mg植物组织加入800-1000 μ l溶液ML继续研磨直至形成均一相液体；
 - B. 单层培养细胞：直接在培养板中加入裂解液ML裂解细胞，每10cm²面积加1ml溶液ML，用取样器抽打几次；
 - C. 细胞悬浮液：离心去细胞，取上清，加1ml溶液ML，振荡器振荡或移液器吸打数次混匀。加溶液ML前不要洗涤细胞，以免降解mRNA；
2. 向上述混合液中加入1/10裂解液体积的溶液MH(例如上一步骤加入1ml溶液ML则需加100 μ l溶液MH)，盖上管盖，轻柔颠倒混匀10次，冰浴10min；
 3. 加入等体积水饱和苯酚:氯仿，用移液器抽打数次混匀，室温放置3min，12000rpm离心10min；
 4. 将上清小心转移至另一无RNase的1.5ml离心管中；
 5. 向离心管中加入1/3体积无水乙醇，上下轻柔颠倒50次混合(此时可能会出现沉淀)，将溶液与沉淀一并转入到RNase-free纯化柱中室温放置2min，12000rpm离心1min；
 6. 收集滤液，加入2/3体积的无水乙醇(如溶液为600 μ l则加入400 μ l无水乙醇)，混匀(此时可能会出现沉淀)将溶液与沉淀一并转入到RNase-free纯化柱中，室温放置2min,12000rpm离心1min，弃滤液；
 7. 向纯化柱中加入500 μ l溶液MP(使用前请检查是否已加入乙醇)，室温放置2min，12000rpm离心1min弃滤液；
 8. 向纯化柱中加入500 μ l溶液MW(使用前请检查是否已加入乙醇)，室温放置2min,12000rpm离心1min，弃滤液；
 9. 向纯化柱中加入500 μ l溶液MW，室温放置2min,12000rpm离心1min,弃滤液；
 10. 将纯化柱12000rpm,离心2min，去除残余液体；
 11. 将纯化柱转入一个新的1.5ml收集管中，加入30-50 μ l溶液EB,室温放置2min,12000rpm离心2min. 将提取的RNA立即进行下游实验，或放-70 $^{\circ}$ C保存。
 12. 注意:如果想提高RNA得率,可重复上步操作一次,合并两次得到的溶液.