

通用环保型RNA快速提取试剂盒

产品组分

组分	R1031	R1032
溶液 I	15 ml	75 ml
溶液 II	5 ml	25 ml
说明书	1份	1份

自备试剂

异丙醇
 无RNase的75%乙醇
 DEPC处理的H₂O

产品说明

通用环保型RNA快速提取试剂盒是东盛公司最新研发的总RNA提取产品。该产品可用于几乎所有新鲜或液氮保存的动、植物组织、培养细胞、昆虫、分离的白细胞等RNA的快速提取，其产物纯度高，可直接用于RT-PCR、核酸杂交等下游实验。

保存条件

室温保存。

注意事项

- 严防操作环境、使用的容器、耗材和试剂的RNase污染。操作过程中勤换手套。
- 根据起始材料量的不同使用不同体积的溶液（见下表，阴影背景标记为一次操作的推荐使用量）。过多或过少的使用量都可能影响RNA的质量或产量。若起始材料量很少，RNA预计产量很低，在异丙醇沉淀时，可加入20 mg/ml肝糖原溶液0.5-1 μl促进RNA沉淀。
- 使用本产品提取的RNA一般不含有DNA污染。在极少数情况下（与组织pH值等相关），如果有DNA污染而又必须去除，则可以用RNase-free的DNase处理样品。
- 请严格遵照操作步骤操作。

不同起始材料试剂用量及预期RNA产率。

生物材料	起始量	溶液 I (ul)	溶液 II (ul)	预期产量 (ug)
动物组织	0.5--5 mg	150	20	0.5--30
	5--10 mg	300	100	2--60
	10--20 mg	600	200	4--120
	25 mg	750	250	12--250
	30 mg	900	300	14--300
	50 mg	1500	500	25--500
	50--100 mg	3000	1000	25--1000
	100--200 mg	6000	2000	50--2000
	150 mg	4500	1500	75--1500
	250 mg	7500	2500	125--2500
植物组织	1--5 mg	150	50	1--5
	5--10 mg	300	100	5--20
	10--25 mg	750	250	20--50
	50--100 mg	3000	1000	50--200
	200 mg	6000	2000	200--400
果蝇	1只 (0.5--2 mg)	100	33	0.5--3.5
	5--10只	300	100	11--17
	20只 (10--40 mg)	750	250	30--44
	40--80只	2400	800	88--135
	100只	3000	1000	50--350
培养细胞	2--5x10 ⁵	150	50	1--5
	1--2x10 ⁶	300	100	5--20
	3--5x10 ⁶	600	200	15--50
	6--9x10 ⁶	750	250	30--90
	1x10 ⁷	1500	500	50--100
	3x10 ⁷	4500	1500	150--300

操作步骤

1 准备工作

溶液 I 在放置后可能会有沉淀，使用前须在65℃水浴加热使沉淀彻底溶解。

2 RNA提取

1) 材料准备:

动物/植物组织、昆虫: 称取25 mg液氮冷冻或新鲜组织，放入用液氮冰冻过的研钵里，立即研磨至粉状。向其中加入750 μ l 溶液 I，继续研磨，知道形成均一相液体。移入无RNase的1.5 ml离心管。

培养细胞: 无RNase的1.5 ml离心管中，加入含平衡盐溶液或细胞培养基的 $6-9 \times 10^6$ 个细胞。14000 rpm离心10 sec，去上清。残留10-20 μ l液体。剧烈振荡直至细胞完全重悬。加入750 μ l溶液 I，用枪头反复吹打3次，勿剧烈。

白细胞: 1 ml全血，用红细胞裂解液（N9331/N9332，单独购买）裂解红细胞后，14000rpm离心10 sec，去上清。残留10-20 μ l液体。剧烈振荡直至细胞完全悬浮。向其中加入750 μ l溶液 I，用枪头反复吹打3次。

2) 向其中加入250 μ l溶液 II（相当于1/3体积溶液 I），盖上管盖。

3) 上下轻柔颠倒混匀10次，冰水浴5 min。

4) 室温14000 rpm离心3-5 min（起始材料越多，离心时间应稍长）。小心移取上清液约600-650 μ l（注意不要吸到上面的泡沫和下面的沉淀）入另一无RNase的1.5 ml离心管中。

5) 向离心管中加入750 μ l异丙醇（相当于1/1体积溶液 I），上下轻柔颠倒50次，14000 rpm离心3-5 min，去上清，注意不要触到沉淀。

6) 加入750 μ l的75%乙醇，振荡30 sec。室温14000 rpm离心1 min，去上清。

7) 在超净台凉至约15 min（勿完全干燥，否则很难溶）。加入40-100 μ l的无RNase的水。振荡30 sec，稍离心。

将提取的RNA立即进行下游实验，或放-70℃保存。