

通用 RNA 提取试剂盒

货号: R1051 规格: 50 次

产品简介

通用RNA提取试剂盒是经过改进开发的新一代产品,提高了裂解液的裂解能力和提取的灵敏度,通过在特定适宜的条件下特异、可逆地结合RNA,而各种蛋白质和其他杂质均可被去除掉,同时改进的硅基质膜增强了对RNA的吸附能力,得到的RNA纯度更好,质量更高。该试剂盒可从各种细胞或组织中快速提取总RNA,每个吸附柱每次可处理50–100 mg 组织或 5×10^6 细胞,可同时处理大量不同样品,一个小时内即可完成反应。提取的总RNA没有DNA和蛋白的污染,可用于Northern blot、Dot blot、polyA 筛选、体外翻译、RNase保护分析和分子克隆等。

产品组分

组分	R1051 (50 次)
溶液 RL	60 ml
溶液 RPI	18 ml
溶液 RW	12 ml
DEPC 处理水	10 ml
RNase-free 纯化柱	50 个
RNase-free 离心管	50 个
说明书	1 份

需要自备的溶液

- 氯仿
- 无水乙醇

保存条件

溶液 RL 应在 2-8℃ 避光保存,其他溶液和纯化柱室温保存。

注意事项

- 初次使用溶液 RPI 和溶液 RW 前,需按比例加入无水乙醇。18 ml 溶液 RPI 中加入 12 ml 无水乙醇 (3:2), 12 ml 溶液 RW 中加入 48 ml 无水乙醇 (1:4)。
- 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。
- 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。
- 不同起始材料的用量及溶液 RL 的用量不同 (参见下表), 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 20mg/ml 的肝糖原溶液 0.5-1 μ l 促进 RNA 沉淀。

样品用量	溶液 RL 的用量
10cm ² 的贴壁培养细胞	1 ml
10 ⁷ 的悬浮培养细胞	1-2 ml
100 μ l 的白细胞	2 ml
50-100 mg 的普通组织样品	1 ml
50-100 mg 的特殊组织样品 (肝、脾、骨及软骨等)	2 ml
15-30 mg 的植物材料 (多糖和多酚含量不高的)	1 ml

- 有关 RNA 的吸光度说明如下:
260nm、320nm、230nm、280nm 下的吸光度分别代表核酸、背景 (溶液浑浊度)、盐浓度和蛋白质等有机物的污染程度,质量较好的 RNA 的 R 值应在 1.8-2.0 之间,当 R<1.8 时,溶液中的蛋白质等有机物的污染比较明显;当>2.2 时,说明 RNA 已经被水解成单核苷酸。
- RNA 浓度 = (OD₂₆₀-OD₃₂₀) * 稀释倍数 * 0.04 μ g/ μ l。

操作步骤

第一次使用前应在溶液 RPI、溶液 RW 中加入无水乙醇,加入量请参见瓶上标签。

1. 样品处理

- 组织: 将组织在液氮中磨碎。每50–100 mg组织加1 ml溶液RL,用匀浆仪进行匀浆处理。样品体积不应超过溶液RL体积的十分之一。
- 单层培养细胞: 直接在培养板中加入溶液RL裂解细胞,每10 cm² 面积加1 ml溶液RL。用取样器抽打几次。
- 溶液RL的加入量根据培养瓶面积决定,不是由细胞数决定。如果加量不足,可能导致提取的RNA中有

DNA污染。

本品仅供科学研究使用。

c. 细胞悬液：离心取细胞，弃上清。每5–10×10⁶动物细胞和植物细胞加入1 ml溶液RL。

加溶液RL前不要洗涤细胞，以免降解mRNA。

2. 将匀浆样品在15–30℃放置5 min，使得核酸蛋白复合物完全分离。

3. 可选步骤：4℃ 12,000 rpm (~13,400×g) 离心5分钟，取上清，转入一个新的无RNase的离心管中。

● 如果样品中含有较多蛋白、脂肪、多糖或肌肉、植物结节部分等，可加此步骤离心去除。离心得到的沉淀中包括细胞外膜、多糖、高分子量DNA，RNA存在于上清溶液中。

4. 加入200 μl氯仿，盖好管盖，剧烈振荡15 s，室温放置3 min。

5. 4℃ 12,000 rpm离心10 min，样品会分成三层，从上至下依次是：无色的水相，白色的中间层和黄色的有机相，RNA主要存在于水相中，水相的体积约为所用溶液RL试剂的60%。把水相转移到新管中，进行下一步操作。注意不要吸到中间层。

● 第一次使用前应在溶液 RPI、溶液RW中加入无水乙醇，加入量请参见瓶上标签。

6. 缓慢加入0.5 倍体积无水乙醇，混匀（此时可能会出现沉淀）。将得到溶液和沉淀一起转入纯化柱中，4℃ 12,000 rpm离心30 s。4℃ 12,000 rpm离心30 s，弃掉收集管中的废液。

● 若溶液体积大于纯化柱容积（700 μl），可分两次离心。

7. 向纯化柱中加入500 μl溶液RPI（使用前请先检查是否已加入乙醇），4℃ 12,000 rpm离心30 s，弃废液。

8. 向纯化柱中加入500 μl溶液RW（使用前请先检查是否已加入乙醇），室温静置2 min，4℃ 12,000 rpm离心30 s，弃废液。

9. 向纯化柱中加入500 μl溶液RW，室温静置2分钟，4℃ 12,000 rpm离心30 s，去除残余液体。

10. 将纯化柱放入2ml收集管中，4℃ 12,000 rpm离心2 min，去除残余液体。

● 此步骤的目的是将纯化柱中残余的漂洗液去除，离心后将纯化柱在室温放置片刻，或置于超净工作台上通风片刻，以充分晾干。如果有漂洗液残留，可能会影响后续的RT等实验操作。

11. 将纯化柱转入一个新的离心管中，加30–100 μl RNase-free ddH₂O，室温放置2 min，4℃ 12,000 rpm离心2 min。

● 洗脱缓冲液体积不应少于30 μl，体积过小影响回收效率。且RNA应保存在-70℃（-80℃），以防降解。

● 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。