



Order: 010-56541096
Tech: 17326982853
Tech QQ: 3353846966
北京赛音图科技有限公司

通用型总 RNA 提取试剂盒

Universal Total RNA Kit

目录号: SR0322-50

产品内容

产品成份	SR0322-50
Buffer RS	50 ml
Buffer WB1	13 ml
Buffer WB2	15 ml
Buffer EB	10 ml
Spin Column With Collection Tubes	50 套

(按要求在 Buffer WB1 中加入 17ml 无水乙醇, Buffer WB1 中加 45ml 无水乙醇)

自备试剂

无水乙醇、氯仿

产品简介

采用 Trizol 试剂与离心吸附柱结合提取总 RNA 的方法, 简化了 RNA 提取的流程, 与经典的异丙醇沉淀法相比, 柱式纯化方法简便, 去除杂质能力更强, 大大提高了 RNA 的纯度。本试剂盒可用于从细菌、培养细胞、血液、动植物组织等材料中分离纯化总 RNA, 每个离心柱每次可处理 20 ~ 50 mg 动物组织、100-300 mg 植物组织或 5×10^6 个细胞, 可同时处理大量不同样品。1 小时内可完成实验, 提取的总 RNA 可用于 RT-PCR、Northern Blot、Dot Blot、polyA 筛选、实时荧光定量 PCR 等实验。

产品特点

1. RNA 纯度更高;
2. 应用广泛: 可提取多种不同的样本材料。

注意事项

1. 经常更换新手套, 因皮肤经常带有细菌, 可能导致 RNase 污染;
2. 使用无 RNase 的塑料制品和枪头, 避免交叉污染;
3. RNA 在裂解液 RS 中时不会被 RNase 降解, 但提取后继续处理过程中应使用不含 RNase 的塑料和玻璃器皿, 玻璃器皿可在 150°C 烘烤 4 h, 塑料器皿可在 0.5 M NaOH 中浸泡 10 min, 然后用水彻底洗净, 再高压灭菌;
4. 配制溶液应使用无 RNase 的水, (将水加到干净的玻璃瓶中, 加入 DEPC 至终浓度 0.1% (V/V) 放置过夜, 高压灭菌);
5. 样品应避免反复冻融, 否则会影响 RNA 的提取得率和质量。

操作步骤

1. 材料处理:

- a. 组织: 30 ~ 50 mg 动物组织用匀浆器进行匀浆处理, 100-300mg 植物组织在液氮中充分研磨, 然后加入 1 ml Buffer RS, 混匀。
- b. 单层贴壁培养细胞: 吸去培养液, 加入适量 Buffer RS, 每 10 cm² 加入 1 ml Buffer RS, 用移液器抽打几次。
- c. 细胞悬液: 离心收集细胞, 每 5 × 10⁶ 个细胞加入 1 ml Buffer RS。
- d. 血液: 直接取新鲜血液, 加入 3 倍体积 Buffer RS, (推荐 0.25 ml 血液+0.75 ml Buffer RS), 充分振荡混匀。

2. 样品加入 Buffer RS 充分混匀, 室温放置 5 min, 使核酸蛋白复合物完全分离。

3. 可选步骤: 4°C, 12,000 rpm 离心 5 min, 转移上清至一新的离心管中。

(注意: 如果样品中含有较多蛋白、脂肪、多糖或肌肉、植物结节部位等可加此步骤离心去除, 离心得到的沉淀中含有细胞外膜、多糖、高分子 DNA 等, RNA 存在于上清液中)

4. 加入 200 ul 氯仿, 盖好管盖, 剧烈充分震荡 15 sec, 室温放置 2 min。

5. 4°C, 12,000 rpm 离心 10 min, 样品将分为三层, 下层红色有机相, 白色中间层和上层无色水相, RNA 主要在上层水相中, 水相的体积约为所用裂解液体积的一半, 将水相转移到一新的离心管中。

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, 将溶液和沉淀一起转入离心吸附柱中, 4°C, 12,000 rpm 离心 30 sec, 弃废液, 若一次不能转移完全可分次转移。

7. 向吸附柱内加入 500 ul Buffer WB1, 4°C, 12,000 rpm 离心 30 sec, 弃收集管中废液。

(注意: Buffer WB1 中按要求加入无水乙醇, 用后立即盖紧瓶盖, 以防乙醇挥发)

8. 向吸附柱内加入 500 ul Buffer WB2, 室温静置 2 min, 4°C, 12,000 rpm 离心 30 sec, 弃收集管中废液。

(注意: Buffer WB2 中按要求加入无水乙醇, 用后立即盖紧瓶盖, 以防乙醇挥发)

9. 重复步骤 8 一次。

10. 4°C, 12,000 rpm 离心 2 min, 甩干残留液体。

(注意: 此步不能省略, 否则残留乙醇会影响后续的酶促反应)

11. 将离心吸附柱置于一个新的无 RNase 的 1.5 ml 塑料离心管中, 加入 30 ~ 100 ul 的 Buffer EB 洗脱, 室温放置 2 min。4°C, 12,000 rpm 离心 1 min, 离心管溶液即 RNA。收集的 RNA 溶液应于 -70°C 保存, 以防降解。

(注意: 洗脱液体积不少于 30 ul, 体积过小影响回收率; 如要提高 RNA 得率, 重复上述步骤一次, 合并两次所得溶液; 如要提高 RNA 浓度, 可将得到的溶液重新加到吸附柱中, 室温放置 2 min, 再次离心收集)