

微量动物组织总 RNA 提取试剂盒说明书

产品组成

微量动物组织总 RNA 提取试剂盒	5 次制备	50 次制备
Cat. No.	5100005	5100050
核酸纯化柱	5 个	50 个
2 ml 收集管	5 个	50 个
研磨棒	5 个	50 个
β-巯基乙醇	50 μl	500 μl
Carrier RNA	15 μl	120 μl
蛋白酶 K 贮存液	60 μl	0.6 ml
DNase I	28 μl	270 μl
Buffer RDD	250 μl	2.5 ml
Buffer RL	2 ml	20 ml
超纯水	4 ml	40 ml
Buffer WAR	5 ml	40 ml
Buffer WBR（浓缩液）	2 ml	12 ml
RNase-free Water	1.5 ml	2 ml×3
说明书	1 份	1 份

产品储存

蛋白酶 K 贮存液、Carrier RNA 和 DNase I 请于 -20℃ 储存，其他试剂与物品储存于常温（0~30℃），可在两年内保持使用性能无明显变化。

技术支持

杭州新景生物试剂开发有限公司研发部：e-mail: technical@simgen.cn, 电话：400-0099-857。

产品介绍

本试剂盒可从 ≤20 mg 的动物组织中提取 ≥200 nt 的 RNA（<200 nt 的 RNA 会被选择性的筛除），可同时处理大量不同样品，提取的 RNA 纯度高，没有基因组 DNA、蛋白和其它杂质的污染，可用于 RT-PCR、Real Time RT-PCR、芯片分析、Northern Blot、Dot Blot、PolyA 筛选、体外翻译、RNase 保护分析等多种下游实验。

用户需自备的试剂与物品

1. 无水乙醇
2. RNase-free 1.5 ml 离心管
3. 移液器及吸头（为避免 RNA 酶的污染，建议选用含有滤芯的 RNase-free 移液器吸头）
4. 一次性手套及防护用品和纸巾
5. 台式小量离心机（可配离心 1.5 ml 离心管和 2 ml 离心管的转子）
6. 水浴锅
7. 无 RNA 酶使用的实验室

使用前准备

1. 如果离心机有制冷功能，请将温度设置到 25℃。将水浴锅温度设置到 56℃。
2. 每 1 ml Buffer RL 中加入 10 μl β-巯基乙醇，混合均匀。此裂解液最好现用现配，加入 β-巯基乙醇的 Buffer RL 可在 4℃ 放置一个月。
3. 第一次使用前应根据试剂瓶标签上的指示在 Buffer WBR 中加入无水乙醇，并在标签的方框中打勾做好“乙醇已加”的标记。
4. 因为唾液、皮肤上均含有 RNA 酶，所以 RNA 提取的全过程都需要戴乳胶手套和口罩。

操作步骤

1. 取≤20 mg 组织到一个洁净的 1.5 ml 离心管中，加入 300 μl 已加入β-巯基乙醇的 Buffer RL，用研磨棒将组织彻底研磨。
 - * 组织用量不要超过 20 mg，否则将导致 RNA 的得率和质量下降。
 - * 组织必须加入 Buffer RL 后方可研磨，否则会导致 RNA 降解。若组织较难彻底研磨，可选用电动或玻璃匀浆器。
 - * 当组织用量<1 mg(肝、胸腺等RNA含量较高的组织用量<0.5 mg)时，需在本步骤加入 2 μl Carrier RNA。
2. 加入 590 μl 超纯水和 10 μl 蛋白酶 K 贮存液，混匀后置于 56°C 温育 10 分钟。12000 rpm 离心 3 分钟，吸取上清液到一个洁净的 1.5 ml 离心管中。
3. 加入 450 μl 无水乙醇，混匀（此时可能会出现沉淀），转移 700 μl 混合液及可能出现的沉淀到核酸纯化柱中（核酸纯化柱置于 2 ml 收集管中），盖上管盖，12000 rpm 离心 1 分钟。
4. 弃 2 ml 收集管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2 ml 收集管中，将步骤 3 中剩余的混合液转入核酸纯化柱中，盖上管盖，12000 rpm 离心 1 分钟。
 - * 滤液无须彻底弃尽，如果要避免粘附在收集管管口的滤液对离心机的污染，可将 2 ml 收集管在纸巾上倒扣拍击一次。
5. 弃 2 ml 收集管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2 ml 收集管中，向核酸纯化柱中加入 350 μl Buffer WAR，盖上管盖，12000 rpm 离心 1 分钟。
6. 弃 2 ml 收集管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2 ml 收集管中。吸取 5 μl DNase I 到一个新的 RNase-free 离心管中，加入 45 μl Buffer RDD，吹打混匀，将混合液全部加入核酸纯化柱的膜中央，室温（20–30°C）静置 15 分钟。
7. 向核酸纯化柱中加入 350 μl Buffer WAR，盖上管盖，12000 rpm 离心 30 秒。
8. 弃 2 ml 收集管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2 ml 收集管中，向核酸纯化柱中加入 550 μl Buffer WBR，盖上管盖，室温静置 2 分钟，12000 rpm 离心 30 秒。
 - * 确认在 Buffer WBR 中已经加入无水乙醇。
9. 重复步骤 8 一次。
10. 弃 2 ml 收集管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2 ml 收集管中，最高速（≥12000 rpm）离心 2 分钟。
 - * 请勿省略该步骤，否则可能因所纯化的核酸中混有乙醇而影响后续的实验效果。
11. 弃 2 ml 收集管，将核酸纯化柱置于一个洁净的 RNase-free 1.5 ml 离心管中，向核酸纯化柱的膜中央部位悬空滴加 30~100 μl RNase-free Water，盖上管盖，室温静置 2 分钟，12000 rpm 离心 1 分钟。
 - * RNase-free Water 的体积不应少于 30 μl，否则会影响 RNA 的洗脱效率。
12. 弃核酸纯化柱，洗脱的 RNA 可立即用于各种分子生物学实验；或者将 RNA 储存于 -70°C 以下备用。