

## 鱼类精液总 RNA 试剂盒说明书

### 产品组成

鱼类精液总 RNA 试剂盒	5 次样品	50 次制备
Cat. No.	5204005	5204050
过滤柱	5 套	50 套
核酸纯化柱	5 套	50 套
Buffer L8	6 ml	55 ml
Buffer WA (浓缩液)	1.9 ml	12 ml
Buffer WBR (浓缩液)	1.5 ml	12 ml
RNase-Free Water	1.5 ml	2 ml × 3
说明书	1 份	1 份

### 产品储存

Buffer L8 请于 2~8℃ 贮存。其他物品和试剂如果储存于室温 (15~25℃)，可在两年内保持使用性能无明显变化；如果将产品储存于 2~8℃，可延长产品的有效期至两年以上。

### 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](mailto:technical@simgen.cn), 电话：400-0099-857。

### 产品介绍

本产品适合从 500 μl 新鲜获取的或者 -80℃ 贮存的鱼类精液中分离纯化总 RNA。本试剂盒采用强烈的裂解液溶解去除精液中的蛋白和基因组 DNA。在含有 RNA 的上清液中补加乙醇后加入核酸纯化柱，RNA 结合在核酸纯化柱上，残留的蛋白与 PCR 抑制物则被过滤除去，RNA 经 Buffer WA 和 Buffer WBR 洗涤后，用 RNase-Free Water 洗脱，即可用于各种分子生物学实验。

### 用户需自备的试剂与物品

1. 无水乙醇
2. 1.5 ml 和 2 ml 离心管（必须选用 RNase-free 的 1.5 ml 及 2 ml 离心管）
3. 移液器吸头（为避免 RNA 酶的污染，必须选用含有滤芯的 RNase-free 移液器吸头）
4. 乳胶手套、一次性口罩等防护用品和纸巾
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. 旋涡震荡器
7. 不使用 RNA 酶的实验室

### 使用前准备

1. 如果离心机有制冷功能，请将温度设置到 25℃。
2. 根据试剂瓶标签上的指示在 Buffer WA 和 Buffer WBR 中加入无水乙醇，并在标签的方框中打勾作好“乙醇已加”的标记。
3. 由于唾液、皮肤上均含有 RNA 酶，请在 RNA 提取的全过程中都戴口罩和乳胶手套。
4. 尽量使用离体 3 小时内的新鲜精液进行 RNA 提取，否则将因为 RNA 的降解而影响最终 RNA 的回收效率。如果不能及时将新鲜收集的精液进行 RNA 提取，应及时将收集的精液于 -80℃ 冻存。

## 操作步骤：

1. 在自备的2 ml离心管中加入500  $\mu$ l精液，加入1 ml Buffer L8，盖上管盖后用力摇晃5~10次，旋涡震荡30秒混合均匀。

\* Buffer L8具有腐蚀性，请戴防护用品进行操作。

\* 如果精液体积不足500  $\mu$ l，则用PBS溶液补足到500  $\mu$ l。

2. 13000 rpm离心10分钟。
3. 小心地吸取700  $\mu$ l上层水相转移到过滤柱中，盖上管盖，13000 rpm离心1分钟。

\* 精液中DNA含量高，此步骤可除去残留的基因组DNA。

\* 不要吸取淡黄色下相，以免影响最终RNA的纯化效果。

4. 弃过滤柱，向2 ml离心管中的滤液加入500  $\mu$ l无水乙醇并直接用吸头吸注6-8次混合均匀，吸取600  $\mu$ l混合液加入到核酸纯化柱中，盖上管盖，12000 rpm离心30秒。

5. 弃2 ml离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到2 ml离心管中，将步骤4中剩余的混合液全部转移到核酸纯化柱中，盖上管盖，12000 rpm离心30秒。

\* 滤液无须彻底弃尽，如果要避免粘附在离心管管口的滤液对离心机的污染，可将2 ml离心管在纸巾上倒扣拍击一次。

6. 弃2 ml离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到2 ml离心管中，在核酸纯化柱中加入500  $\mu$ l Buffer WA，盖上管盖，12000 rpm离心30秒。

\* 确认在Buffer WA中已经加入无水乙醇。

7. 弃2 ml离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到2 ml离心管中，在核酸纯化柱中加入700  $\mu$ l Buffer WBR，盖上管盖，12000 rpm离心30秒。

\* 确认在Buffer WBR中已经加入无水乙醇。

8. 弃2 ml离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到2 ml离心管中，14000 rpm离心1分钟。

\* 如果离心机的离心速度达不到14000 rpm，则用最高速离心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。

9. 弃2 ml离心管，将核酸纯化柱置于一个RNase-free的1.5 ml离心管中，在纯化柱中加入50~100  $\mu$ l RNase-Free Water，盖上管盖，室温静置1分钟，12000 rpm离心30秒。

\* 如果离心机没有防泄漏的盖子，请将离心条件改为8000 rpm离心1分钟，以免管盖脱落而损伤离心机。

\* 不要用少于50  $\mu$ l体积的RNase-Free Water洗脱RNA，否则可能因为RNase-Free Water不能润透纯化柱而影响RNA的洗脱效率。

10. 弃纯化柱，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-80℃备用。

\* 即使电泳检测不到基因组DNA的条带，也不代表所获得的RNA中没有基因组DNA。如果要彻底去除DNA的污染，请用不含RNA酶的DNase I处理获得的RNA。