

精液总 RNA 试剂盒说明书

产品组成

精液总 RNA 试剂盒	5 次样品	50 次制备
Cat. No.	5203005	5203050
核酸纯化柱	5 个	50 个
2 ml 离心管	5 个	50 个
Buffer SP	180 μ l	1.8 ml
蛋白酶 K 贮存液	120 μ l	1.2 ml
Buffer L9	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 $\times$ 2
说明书	1 份	1 份

产品储存

Buffer L9 请于 2~8℃ 贮存；Buffer SP 和蛋白酶 K 贮存液请于 -20℃ 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, 电话：400-0099-857。

产品介绍

本产品适合从 450 μ l 新鲜获取的或者 -80℃ 贮存的精液中分离纯化总 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 1.5ml 离心管和 2ml 离心管的转子）
6. 旋涡震荡器、水浴锅或干浴锅
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) 将水浴锅或干浴锅设置到 56℃。
- 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 的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450 μ l液化的精液，再加入30 μ l Buffer SP和20 μ l 蛋白酶K贮存液，漩涡振荡混合均匀。56℃水浴10分钟。

2) 加入1ml Buffer L9，漩涡振荡30秒混合均匀。

* Buffer L9具有腐蚀性，请戴防护用品进行操作。

3) 13000 rpm离心10分钟。在一个RNase-free的1.5 ml 离心管中加入500 μ l 无水乙醇备用。

4) 小心地吸取 700 μ l 离心上清转移到装有无水乙醇的 1.5 ml 离心管中，勿弃吸头，直接用吸头吸注两次混匀，吸取混合液进入步骤5) 的操作。

* 不要吸取淡黄色下相，以免影响最终 RNA 的纯化效果。

5) 转移 600 μ l 步骤4) 中的混合液转移到核酸纯化柱（核酸纯化柱置于试剂盒提供的无盖2ml 离心管中）中，盖上管盖，12000 rpm 离心 30 秒。

6) 弃2ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到2ml 离心管中，将1.5 ml 离心管中剩余的液体全部倒入核酸纯化柱中，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口的滤液对离心机的污染，可将2ml 离心管在纸巾上倒扣拍击一次。

7) 弃2ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到2ml 离心管中，在核酸纯化柱中加入500 μ 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。

8) 弃2ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到2ml 离心管中，在核酸纯化柱中加入700 μ 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。

9) 弃2ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到2ml 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。

10) 弃2ml 离心管，将核酸纯化柱置于一个RNase-free的1.5ml离心管中，在纯化柱中加入50 μ 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 μ 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。

11) 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。