

产品组分

组分名称	组分编号	规格	保存条件
		50 RXN	
裂解液 RL1 (Buffer RL1)	RM30140	30 mL	RT
去蛋白液 PR2 (Buffer PR2)	RM30141	35 mL	RT
RNase-free H ₂ O	RM30142	5 mL	RT
漂洗液 WB2 (Buffer WB2)*	RM30144	12 mL	RT
RNase-free 吸附柱和收集管 (RNase-free Adsorption Column and Collection Tubes)	RM30185	50 pk	RT
gDNA 清除柱和收集管 (gDNA Remove Column and Collection Tubes)	RM30186	50 pk	RT
1.5 mL RNase-free Centrifuge Tubes	RM30202	50 pk	RT

*注: 50 RXN漂洗液Buffer WB2使用前加入48 mL无水乙醇。

产品说明

本试剂盒不依赖于苯酚、氯仿等有毒试剂, 可用于普通动物组织和细胞样本 RNA 快速提取。优异的硅胶柱纯化技术, 可有效清除 gDNA 残留, 快速提取动物总 RNA。提取的 RNA 可直接用于 RT-PCR、qPCR 及 RNA 建库等实验。

产品特点

1. 不使用有毒的苯酚、氯仿、β-巯基乙醇等试剂, 也无需进行乙醇沉淀等步骤。
2. 快速, 一般提取单个样品时间可在 15 min 内完成。
3. 柱法去除 gDNA, 得到的 RNA 一般不需要 DNase I 进行消化。
4. 通用性强, 普通动物组织和细胞样本均可使用。

保存条件

本试剂盒需室温储存, 不适合保存在低温条件下, 容易产生沉淀进而影响实验效果。

注意事项

1. 所有离心步骤均在室温进行, 使用转速 $\geq 13,000$ rpm (~ 14,000 x g)的离心机。
2. Buffer RL1, Buffer PR2 中含有刺激性化合物, 操作时戴乳胶手套, 避免沾染皮肤, 眼睛和衣服。若沾染皮肤、眼睛时, 要用大量清水或者生理盐水冲洗。
3. 每次使用后应及时盖紧试剂瓶, 避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、pH 值变化。
4. 本试剂盒可去除体系中绝大多数的 DNA 污染, 纯化获得的 RNA 通常无需使用 DNase I 处理即可用于下游实验操作。如果下游实验对痕量 DNA 十分敏感, 可以使用 DNase I 进一步清除 DNA 污染。

实验流程图

动物组织细胞RNA提取流程图

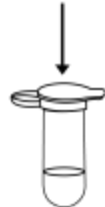
(样本分为组织和细胞两块, 详见说明书操作步骤)



样本裂解: 对应样本中加入500 μL 的裂解液RL1, 振荡混匀至无明显细胞团或组织块



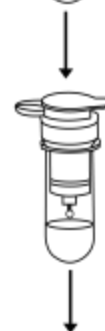
柱法去除gDNA: 将液体转至放好收集管的gDNA清除柱上, 13,000 rpm (14,000 x g) 离心1 min, 收集滤液 (gDNA在柱上, RNA在滤液中)



调节过柱环境: 向滤液中加入0.5倍体积的无水乙醇, 用枪吹打混匀

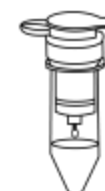


RNA吸附: 将混合液全部转移到放好收集管的RNase-free的吸附柱中, 13,000 rpm (14,000 x g) 离心30 sec, 倒去滤液 (RNA在吸附柱上)



洗涤RNA:

1. 去除蛋白: 向吸附柱中加入700 μL 的去蛋白液 PR2, 13,000 rpm (14,000 x g)离心30 sec, 倒去滤液 (RNA在吸附柱上)
2. 去除盐离子: 向吸附柱中加入500 μL 的漂洗液WB2, (首次使用需在WB2瓶中加入48 mL无水乙醇) 13,000 rpm (14,000 x g)离心30 sec, 倒去滤液 (RNA在吸附柱上)
3. 重复2一次
4. 去除漂洗液: 空管13,000 rpm (14,000 x g) 离心2 min, 倒去滤液 (RNA在吸附柱上)



洗脱RNA: 向吸附柱正中心加入30-100 μL 的RNase-free的ddH₂O, 室温静置2 min, 13,000 rpm(14,000 x g)离心1 min (RNA在滤液中)

操作说明

实验前准备

1. 第一次使用前请先在 50 RXN 漂洗液 WB2 瓶中加入 48 mL 无水乙醇!
2. 使用前需检查 Buffer RL1 是否有沉淀, 如果有沉淀, 需要在 37°C 水浴来溶解沉淀, 待溶液澄清后方可使用。

操作步骤

1. 样本处理

A. 贴壁细胞

无需进行消化步骤, 将培养基中的上清液去除后, 可以直接加入 500 μ L Buffer RL1 进行消化和裂解; 不方便直接裂解的培养容器, 可以用细胞刮子刮下细胞, 或者胰蛋白酶消化后吹打下收集细胞到 1.5 mL 离心管, 再加入 500 μ L Buffer RL1 (小于 5×10^6 个细胞) 进行裂解, 涡旋震荡直至无明显细胞团即可。

B. 悬浮细胞

直接离心收集细胞, 13,000 rpm ($\sim 14,000 \times g$) 离心 10 sec, 使细胞沉淀下来, 去上清后加入 500 μ L Buffer RL1 (小于 5×10^6 个细胞), 涡旋震荡直至无明显细胞团即可。

C. 动物组织

- a. 匀浆处理: 新鲜组织 (取 10-20 mg) 加入 500 μ L Buffer RL1 后, 使用玻璃匀浆器或电动匀浆器进行匀浆, 至无明显组织块即可。
- b. 液氮研磨: 在液氮中研磨组织成粉末后, 取适量组织细粉 (10-20 mg) 至 1.5 mL RNase-free 离心管中, 加入 500 μ L Buffer RL1, 剧烈振荡 20 sec, 难裂解样品可用移液器反复吹打匀浆。

2. RNA 提取

- a. 将第一步中裂解结束的样本, 转移到放好收集管的 gDNA 清除柱中 (若上清液较多, 可分次加入到 gDNA 清除柱中), 13,000 rpm ($\sim 14,000 \times g$) 离心 1 min, 丢弃掉 gDNA 清除柱, **收集滤液 (RNA 在滤液中)**。
- b. 向滤液中加入 0.5 倍滤液体积的无水乙醇, 此时可能出现沉淀, 但是不影响提取过程, 立即吹打混匀, 不要离心。
- c. 将上述混合液加入至放好收集管的 RNase-free 吸附柱中, 13,000 rpm ($\sim 14,000 \times g$) 离心 30 sec, **倒去滤液**。
- d. 将 RNase-free 的吸附柱放回收集管中, 向吸附柱中加入 700 μ L 的去蛋白液 PR2, 13,000 rpm ($\sim 14,000 \times g$) 离心 30 sec, **倒去滤液**。
- e. 将 RNase-free 的吸附柱放回收集管中, 向吸附柱中加入 500 μ L 的漂洗液 WB2 (**请确认使用前已加入无水乙醇**), 13,000 rpm ($\sim 14,000 \times g$) 离心 30 sec, **倒去滤液**。
- f. 重复上述步骤 e。
- g. 将 RNase-free 的吸附柱放回收集管中, 空管 13,000 rpm ($\sim 14,000 \times g$) 离心 2 min, 去除残留在吸附柱中的漂洗液 WB2 (可将空管于通风橱中放置 5 min, 至乙醇彻底挥发)。
- h. 取出 RNase-free 的吸附柱放至 1.5 mL RNase-free 的离心管中, 向**吸附柱的中间部位**悬空加入 30-100 μ L 的 RNase-free 的 dd H₂O, 室温静置 2 min 后, 13,000 rpm ($\sim 14,000 \times g$) 离心 1 min, 将 RNA 洗脱下来。
- i. 提取的 RNA 可直接用于下游实验或 -80°C 保存。