

## Total RNA Extraction Partner

### 总 RNA 提取 Partner

产品编号	产品名称	规格
BL1368A	总 RNA 提取 Partner	50 T

#### 产品简介:

本产品为 Trizol 法 RNA 提取试剂的配套产品。借助 Trizol 强大的裂解能力，配合本产品中独特的硅胶膜吸附柱使用，可增强对 RNA 的吸附能力，同时可有效去除蛋白质、无机盐离子及有机杂质等物质。得到的总 RNA 通常不含有 siRNA、snRNA、5.8S rRNA、5S rRNA 和 tRNAs 等 200 nt 以下的 RNA。提取的 RNA 纯度高、产量大，无基因组 DNA 和蛋白质污染。可直接用于 RT-PCR、Northern blot、dot blot、polyA 筛选、体外翻译、RNase 保护实验和分子克隆等一系列操作。

#### 产品特点:

- ◇ 简便快速：步骤少，操作简单，节省时间；
- ◇ 纯度高：硅胶膜吸附柱最大限度除去蛋白质等杂质，OD260/OD280 一般在 1.9 以上。

#### 产品组成:

编号	组分	规格
1	Buffer RW1	40 mL
2	Buffer RW2	12 mL
3	Buffer TB	10 mL
4	Spin Columns & Collection Tubes	50 套
5	1.5mL Centrifuge Tubes (DNase/RNase-free)	50 个

#### 使用方法:

##### 1. 样本处理:

- (a) 组织样本：将组织切成小块，在液氮中磨碎，将研磨好的组织粉末快速转入装有 1 mL 裂解液（推荐使用 BS258A）的 2 mL 离心管中，或将切成小块的组织加入裂解液后用匀浆仪进行匀浆处理。在涡旋振荡器上迅速振荡混匀，置于冰上，待所有的样品研磨完。

**注：每 50-100 mg 组织加 1 mL 裂解液，样品体积不应超过裂解液体积的 10%。**

**可选步骤：**裂解产物应呈澄清的透明粘稠液体。对于富含蛋白、脂肪或多糖物质的样品如肌肉、脂肪组织和植物结节部位等，匀浆后仍会存留有不溶物质，可于 4°C 12,000 x g 离心 10 min，吸取上清至一新的离心管中进行后续操作。

- (b) 贴壁细胞：吸尽细胞培养液，每 10 cm<sup>2</sup> 培养面积（6 孔板单孔或 35 mm 平皿）加入 1 mL 裂解液，用加样器吹打数次，以确保细胞完全裂解，然后转移至离心管中。

**注：裂解液的使用量应由培养皿表面积决定，而非由细胞数目决定。裂解液量不足可能导致提取的 RNA 中有 DNA 污染。**

- (c) 悬浮细胞：离心收集细胞，吸尽液体，每 5-10×10<sup>6</sup> 动物或酵母细胞，或每 1×10<sup>7</sup> 细菌细胞加入 1 mL 裂解液，用加样器吹打，使其完全裂解，然后转移至离心管中；

**注：添加裂解液前切勿洗涤细胞，以免 RNA 降解。必要时可以用匀浆器来裂解某些细菌或者酵母细胞。**

2. 裂解产物于室温放置 5 min，使核酸-蛋白复合物完全分离。（注：此时样品可在 -80°C 长期保存）

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意：在体外研究使用，不用于诊断或治疗用途，本产品不是医疗装置。



3. 每 1 mL 裂解液加入 0.2 mL 氯仿，盖紧管盖，剧烈振荡 15 s，室温放置 2-3 min。
  4. 12,000 rpm 离心 15 min，样品会分成三层：桔黄色的下层有机相，中间层和无色的上层水相。
  5. 吸取含总 RNA 的上层水相至新的离心管中，吸取水相的体积为所用裂解液试剂的 50%-60%。
  6. 在得到的水溶液中加入 0.5 倍体积无水乙醇，上下颠倒数次混匀（此时出现沉淀），将得到的溶液和沉淀一起转入 Spin Columns & Collection Tubes（吸附柱放在收集管中），12,000 rpm 离心 30 s，弃除收集管中的废液，将吸附柱放回收集管中。
  7. 向吸附柱加入 500  $\mu$ L Buffer RW1，12,000 rpm 离心 30 s，弃除收集管中废液，将吸附柱放回收集管中。
  8. 向吸附柱加入 500  $\mu$ L Buffer RW2（使用前检查是否加入无水乙醇），12,000 rpm 离心 30 s，弃除收集管中废液，将吸附柱放回收集管中。
  9. 重复操作步骤 8 一次。
  10. 将吸附柱放回收集管中，12,000 rpm 离心 2 min。
- 注：此步骤十分重要，否则 Buffer RW2 中残留的乙醇会影响后续实验。**
11. 将吸附柱放入一个新的 1.5 mL 离心管（DNase/RNase-free），加入 50-100  $\mu$ L Buffer TB，室温放置 1-2 min，12,000 rpm 离心 1 min，得到 RNA 溶液。所得的 RNA 应立即使用或适量分装后-80°C保存，避免反复冻融。

#### 注意事项：

1. 首次使用前，必须在每瓶 Buffer RW2 中加入 48 mL 无水乙醇，充分混匀后使用。每次使用后将瓶盖盖紧，以保持清洗液中的乙醇含量；
2. 提取处理过程中应使用不含 RNase 的塑料和玻璃器皿。
3. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品；
4. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

#### 有效期：

室温保存 12 个月。

