

Total RNA Extraction Kit

总 RNA 提取试剂盒

产品编号	产品名称	规格
BL1365A	总 RNA 提取试剂盒	100 T

产品简介:

本试剂盒是基于 Trizol 改进后的柱式总 RNA 提取试剂盒。其原理是利用异硫氰酸胍/酚/氯仿法, 快速裂解细胞, 溶解细胞内含物, 抑制核酸酶活性, 从而有效防止 RNA 在提取过程中的降解。加入氯仿后, 溶液分为水相和有机相。RNA 保留在上层水相中, 分离后搭配独特的硅胶膜吸附柱, 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 LB	100 mL
2	Buffer RW1	40 mL×2
3	Buffer RW2	12 mL×2
4	Buffer TB	10 mL×2
5	Spin Columns & Collection Tubes	50 套×2
6	1.5mL Centrifuge Tubes (DNase/RNase-free)	50 个×2

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 Buffer LB 的 2 mL 离心管中, 或将切成小块的组织加入 Buffer LB 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 Buffer LB, 样品体积不应超过 Buffer LB 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 rpm 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 cm² 培养面积 (6 孔板单孔或 35 mm 平皿) 加入 1 mL Buffer LB, 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: Buffer LB 的使用量应由培养皿表面积决定, 而非由细胞数目决定。Buffer LB 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 5-10×10⁶ 动物或酵母细胞, 或每 1×10⁷ 细菌细胞加入 1 mL Buffer LB, 用加样器吹打, 使其完全裂解, 然后转移至离心管中;

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。



注：添加 Buffer LB 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）
3. 每 1 mL Buffer LB 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 Buffer LB 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 μ 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 μ 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 μ 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。每次使用后请将瓶盖盖紧，以保持清洗液中的乙醇含量；
2. Buffer LB 中含有苯酚等有害物质，应在通风橱内操作并使用个人防护用品如实验服、手套、防护眼镜或面具等，防止皮肤接触和吸入；
3. RNA 在 Buffer LB 中时不会被 RNase 降解。但提取后继续处理过程中应使用不含 RNase 的塑料和玻璃器皿。
4. 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；
5. 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，其中 Buffer LB 4°C避光保存。

