

动物组织总 RNA 提取试剂盒 (双柱法)



金普来
Gene-Protein Link

产品货号	G01E02S	G01E02M	G01E02L
产品规格	20T	50T	100T
Buffer A	10mL	25mL	50mL
Buffer B	6mL	15mL	30mL
Buffer C	10mL	25mL	50mL
Buffer D	10mL	24mL	48mL
RNase-Free ddH ₂ O	5mL	10mL	20mL
DNA清除柱	20管	50管	100管
RNA结合柱	20管	50管	100管
贮存条件	室温	室温	室温

【产品介绍】

本试剂盒采用双离心柱法，可以高效从动物组织（或培养细胞）中提取到高纯度高质量的总 RNA。其中 DNA 清除柱，能有效分离并吸附基因组 DNA，而 RNA 结合柱可高效结合 RNA，操作简便省时，从而使获得的 RNA 无降解，无 DNA，无蛋白等杂质。

本试剂盒全程 RNase-Free，全程可在室温条件下操作，无需冰浴和低温离心，无需额外添加 DNase，无需使用异丙醇/氯仿等微毒类试剂，全程 30 min 内完成，适用于多种新鲜或冻存的动物组织（10~20mg）或培养细胞（ $1\sim5\times10^6$ ）的总 RNA 提取及纯化。

采用本试剂盒提取到的总 RNA 可用于多种下游分子实验，例如：cDNA 合成、RT-PCR、Real Time PCR、Northern Blot、Dot Blot、体外翻译、芯片分析、PolyA 筛选、分子克隆和 RNase 保护分析等。

【需要未提供】

- 无水乙醇
- β -巯基乙醇（选用）
- 普通离心机
- RNase-Free 加样器，RNase-Free 离心管/容器等

【使用前准备】

1. 所有实验步骤均在常温（15~25℃）进行（包括离心），切勿使用冰浴和低温（4℃）离心。
2. **（选用）**使用前，请在 Buffer A 中加入 β -巯基乙醇。按照每 1mL Buffer A 加入 10 μ L β -巯基乙醇比例，建议现配现用。

注：如提取的 RNA 不用于克隆全长 cDNA，仅用于 qPCR 或测序分析等其他下游操作，可以选择不加 β -巯基乙醇。

注：Buffer A 在加入 β -巯基乙醇后可在 4℃放置 1 个月。

3. 使用前，请在 Buffer B 中加入无水乙醇，加入量请参照试剂瓶上标签。

Buffer B 中无水乙醇的添加量见下表:

产品货号	产品规格	无水乙醇加入量
G01E02S	20T	12mL
G01E02M	50T	30mL
G01E02L	100T	60mL

4. 使用前, 请在 Buffer D 中加入无水乙醇, 加入量请参照试剂瓶上标签。

Buffer D 中无水乙醇的添加量见下表:

产品货号	产品规格	无水乙醇加入量
G01E02S	20T	25mL
G01E02M	50T	60mL
G01E02L	100T	120mL

5. Buffer A 和 Buffer C 在低温贮存时可能有晶体析出现象, 可将其放置于室温或 37℃ 一段时间, 将晶体溶解后混匀再使用。

【使用方法】

1. 样本处理

- ① 动物组织: 取新鲜组织每 10~20mg 加入 500 μ L Buffer A, 用匀浆器将组织研磨均匀。

注: 组织量不要超过 20mg。

② 培养细胞:

- 贴壁细胞: 不须消化, 可直接用 Buffer A 进行消化、裂解; 或者离心收集细胞后加入 Buffer A, 按照每 $1\sim5\times10^6$ 个细胞加入 500 μ L Buffer A, 用移液器反复吹打混匀(直到看不到细胞团为止)。
- 悬浮细胞: 直接离心收集细胞, 按照每 $1\sim5\times10^6$ 个细胞加入 500 μ L Buffer A, 用移液器反复吹打混匀(直到看不到细胞团为止)。

注: RNA 在 Buffer A 不会受到 RNase 的污染, 如果组织或细胞在加入 Buffer A 裂解后不即时使用, 在室温条件下可保存 24h, 在 4℃ 中可保存 1 周, 更长时间保存请存放于 -80℃, 使用时将溶液在室温或 37℃ 溶解即可。

2. 将研磨均匀的匀浆液转移至 DNA 清除柱中(将清除柱放入收集管中), 12,000rpm ($\sim 13,400\times g$) 离心 2min。移除 DNA 清除柱, 保留收集管内上清液。

注: 若组织使用量大于 20mg 或组织研磨后块状碎片太多, 先将匀浆液移至 1.5mL 离心管中, 12,000rpm ($\sim 13,400\times g$) 离心 5min, 再将上清液转移至清除柱中, 进行步骤 2 操作。如果 DNA 清除柱收集管底部有沉淀产生, 需将上清液转移至干净离心管中再进行步骤 3, 切勿将其吸入上清液中。

3. 向上述上清液(体积应约为 500 μ L)中加入 1.6 倍体积 Buffer B (800 μ L), 轻柔混匀。

注: Buffer B 加入量请按照实际上清液的体积进行比例换算加入。



如果混合液出现浑浊或絮状沉淀，请直接进行步骤 4 即可。

4. 将约 700 μ L 混合液转移至 RNA 结合柱中(将结合柱放入收集管中)，按照 12,000rpm ($\sim$ 13,400 $\times$ g) 离心 1min，弃掉收集管中的废液。

注：如果混合液中出现絮状沉淀，请将沉淀一并转移至纯化柱中。

5. 将结合柱放回收集管中，将剩余混合液全部加入结合柱中，12,000rpm ($\sim$ 13,400 $\times$ g)，离心 1min，弃掉收集管中的废液。
6. 向结合柱中加入 500 μ L Buffer C，12,000rpm ($\sim$ 13,400 $\times$ g) 离心 1min，弃掉收集管中的废液。
7. 向结合柱中加入 700 μ L Buffer D，12,000rpm ($\sim$ 13,400 $\times$ g) 离心 1min，弃掉收集管中的废液。
8. 重复步骤 7。
9. 将结合柱放回收集管中，12,000 rpm ($\sim$ 13,400 $\times$ g) 空管离心 2min，去掉离心柱中残余的 Buffer D。
10. 将结合柱转移至新的离心管中，向结合柱的膜中央滴加 50 $\sim$ 200 μ L 已于 65 $^{\circ}$ C 预热的 RNase-Free ddH₂O(切勿将洗脱液添加到压圈上，否则会损失较大体积的洗脱液)，室温放置 2min。然后 12,000rpm ($\sim$ 13,400 $\times$ g) 离心 1min，收集 RNA 溶液。

注 1：RNase-Free ddH₂O 加入体积不应低于 50 μ L，体积过小会影响洗脱效率。

注 2：为提高 RNA 产量，可将离心得到的 RNA 溶液重新加至结合柱中，重复步骤 10。得到的 RNA 溶液可直接用于下游实验或置于-80 $^{\circ}$ C 保存（可保存一年）。

注 3：由于本试剂盒对 RNA 二级结构保护较好，建议凝胶电泳之前，先将得到的 RNA 溶液置于 72 $^{\circ}$ C 变性处理 5 $\sim$ 10min。

【注意事项】

- 本实验应在单独 RNA 操作间进行，并在实验前清理好实验桌，实验时佩戴一次性手套、口罩，以避免 RNA 降解。
- 本试剂盒在室温条件下贮存，有效期可达两年。在 2 $\sim$ 8 $^{\circ}$ C 条件下可贮存更长时间。但在低温条件下贮存时，试剂容易产生沉淀。使用前需将试剂在室温条件下放置一段时间，必要时需在 37 $^{\circ}$ C 水浴中预热 10min，使沉淀溶解后再使用。
- Buffer A、Buffer C 具有刺激性，操作时请进行相关防护措施（佩戴口罩/手套等）。
- 使用本试剂盒得到的 RNA 产量，与组织的初始量，组织的新鲜程度，组织保存时间及实验操作有关。
- 本试剂盒中结合柱 RNA 的最大承载量为 160 μ g，离心柱液体最大承载量为 800 μ L。
- 样品应避免反复冻融，否则会导致 RNA 降解。
- RNA 产率和质量与组织样本用量和洗脱体积有关，建议每 500 μ L Buffer A 使用组织量 10 $\sim$ 20mg。
- 洗脱体积：洗脱液体积不应少于 50 μ L，否则会影响 RNA 回收效率。
- 本产品仅用于科学研究用途。

动物组织总 RNA 提取试剂盒 (双柱法)



金 普 来
Gene-Protein Link

【相关产品】

货号	产品名称	规格
G01E01	培养细胞总 RNA 提取试剂盒 (双柱法)	20T/50T/100T
G01E03	植物组织总 RNA 提取试剂盒 (双柱法)	20T/50T/100T
G01E04	多糖多酚植物总 RNA 提取试剂盒 (双柱法)	20T/50T/100T
G01E05	Total RNA 提取液	10mL/100mL
G01E10	植物基因组 DNA 提取试剂盒	20T/100T/200T
G03R01	第一代逆转录预混液 RT-Mix (两步法)	10T/20T/50T
G03R02	第一代逆转录预混液 RT-Mix (一步法)	10T/20T/50T

Version: 20190118 (第一版)