

动物组织总 RNA 提取试剂盒

产品概述

本试剂盒可以高效率的从多种动物组织中提取得到高纯度高质量的总 RNA。试剂盒提供的高效 DNA-Cleaning Column, 轻松实现上清液和组织裂解物分离, 并吸附除去基因组 DNA, 操作简便、省时; RNA-Only Column 能高效的结合 RNA。全体系 RNase-Free, 提取的 RNA 无降解; Buffer RW1、Buffer RW2 缓冲液洗涤体系, 使获得的 RNA 纯度极高。

产品组成

试剂盒组成	FZ009-12	FZ009-50
	12 T	50 T
Buffer RL1	6 mL	25 mL
Buffer RL2	4 mL	15 mL
Buffer RW1	6 mL	25 mL
Buffer RW2	6 mL	24 mL
RNase-Free ddH ₂ O	5 mL	10 mL
RNA-only Column	12 套	50 套
DNA-Cleaning Column	12 套	50 套
RNA 收集管	12 支	50 支

储存条件

- 本试剂盒在常温(15~25 °C)干燥条件下, 可保存 24 个月。
- 若溶液产生沉淀, 在使用前务必将试剂盒内的溶液在室温中放置一段时间, 必要时可在 37 °C 水浴中预热 10 分钟, 以溶解沉淀, 混匀后再使用。

注意事项

- 所有实验步骤均在常温(15~25 °C)进行(包括离心), 切勿使用冰浴和低温(4 °C)离心。
- **试剂盒使用前, 请在 Buffer RL2 中添加乙醇, 加入量请参照试剂瓶上标签。**
- **试剂盒使用前, 请在 Buffer RW2 中添加乙醇, 加入量请参照试剂瓶上标签。**

操作步骤

1. 根据组织来源按以下说明进行组织或细胞裂解。

动物组织: 推荐按照 1) 方法进行裂解, 如设备或组织量不允许, 可按照 2) 3) 方法进行裂解。

1) 将新鲜的或冻存的动物组织样品与预冷的组织研磨液(货号: FZ010-100)按照 1g: 5 mL 的比例, 置于冰上用电动匀浆器将组织研磨均匀。立即取匀浆液 50 μ L, 加入到含有 500 μ L Buffer RL1 的 1.5 mL 离心管中, 用移液器反复吹打直至裂解液中无明显沉淀。

2)取新鲜组织每 10-20 mg 加入 500 μ L Buffer RL1, 用玻璃匀浆器或电动匀浆器将组织研磨均匀。

注意: 组织量不要超过 20 mg, 否则可能会造成 DNA-Cleaning Column 发生堵柱现象, 导致 RNA 的质量下降。

3) 将新鲜的或冻存的动物组织样品迅速转移至液氮预冷的研钵中, 用研杵研磨组织, 其间不断加入液氮, 直至研磨成粉末状(无明显的可见颗粒, 如果没有研磨彻底会影响 RNA 的收率和质量)。将研磨成粉末状的样品约 10~20 mg 加入到含有 500 μ L Buffer RL1 的 1.5 mL 离心管中, 用移液器反复吹打直至裂解液中无明显沉淀

培养细胞:

1) 贴壁细胞: 不须消化, 可直接用 Buffer RL1 进行消化、裂解; 或者离心收集细胞后加入 Buffer RL1, 1-5 \times



+86-18911183647



service@d-nano.cn



www.d-nano.cn



10⁶ 细胞加入 500 μL Buffer RL1, 用移液器反复吹打混匀(直到看不到细胞团为止)。

2) 悬浮细胞: 直接离心收集细胞, 加入 Buffer RL1, 1-5 × 10⁶ 细胞加入 500 μL Buffer RL1, 用移液器反复吹打混匀(直到看不到细胞团为止)。

注意: RNA 在 Buffer RL1 不会受到 RNase 的污染, 如果组织或细胞在加入 Buffer RL1 裂解后不即时使用, 在室温条件下可保存约 24 h, 在 4 °C 中保存约 1 周, 更长时间保存请存放于 -80 °C, 使用时将溶液在室温或 37 °C 溶解即可。

2. 将上述组织或细胞裂解溶液转移至 DNA-Cleaning Column 中(DNA-Cleaning Column 放入收集管中), 13,000 ×g 离心 2 min。移除 DNA-Cleaning Column, 保留收集管内上清液。

注意: 若组织使用量大于 20 mg 或组织研磨后块状碎片太多, 先将组织裂解液移至 1.5mL 离心管中, ~13,000 ×g 离心 5 min, 再将上清液转移至过滤柱中, 进行步骤 2 操作。如果 DNA-Cleaning Column 收集管底部有沉淀产生, 请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 μL)中加入 1.6 倍体积 Buffer RL2(使用前请确认已按照说明加入乙醇), 轻柔混匀。

注意: Buffer RL2 加入量请按照实际操作过程中上清液的体积进行比例换算加入。例如: 500 μL 上清液中加入 800 μL Buffer RL2。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 700 μL 混合液转移至 RNA-only Column 中(纯化柱放入收集管中), 13,000 ×g 离心 1 min, 弃掉收集管中的废液。

5. 将纯化柱放回收集管中, 将剩余混合液全部加入纯化柱中, 13,000 ×g, 离心 1 min, 弃掉收集管中的废液。

6. 向纯化柱中加入 500 μL Buffer RW1, 13,000 ×g 离心 1 min, 弃掉收集管中的废液。

7. 向纯化柱中加入 700 μL Buffer RW2(使用前请确认已按照说明加入乙醇), 13,000 ×g 离心 1 min, 弃掉收集管中的废液。

8. 重复步骤 7。

9. 将纯化柱放回收集管中, 13,000 ×g 空管离心 2 min, 去掉离心柱中残余的 Buffer RW2。

10. 将纯化柱转移至 RNA 收集管中, 向纯化柱的膜中央滴加 50 μL 的 RNase-Free H₂O(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 2 min。13,000 ×g 离心 1 min 收集 RNA 溶液。

注意: 硅胶膜会吸附少量的液体, 洗脱后所得的 RNA 产物体积会有所偏差。增加洗脱体积可提高 RNA 产量, RNase-Free H₂O 加入体积不应低于 20 μL, 体积过小会影响洗脱效率。得到的 RNA 溶液可直接用于下游实验或置于 -80 °C 保存。



+86-18911183647



service@d-nano.cn



www.d-nano.cn

