



柱式超纯动物 RNA 小提试剂盒

货号: R2010

规格: 50T

保存: 常温, 其中 RNase-free DNase 和 Proteinase K -20°C保存, 有效期 12 个月。

产品说明:

本产品利用 RNA 在特定缓冲体系下能够高效结合硅基质材料的原理, 采用硅胶膜离心吸附柱, 适用于从培养细胞和动物组织中提取总 RNA, 可以有效提取分子量大于 200nt 的 RNA。提取过程中, 无需使用苯酚氯仿等, 采用 DNase 柱上处理, 彻底去除基因组 DNA 残留, 提取的 RNA 样品经 PCR 检测不含基因组 DNA, 且极少含蛋白质和其它杂质的污染。本产品操作简单快速, 且提取的 RNA 纯度高, 可直接用于 RT-PCR、Northern blot、构建 cDNA 文库等各种分子生物学实验。

产品组分:

组分	50T	注意事项
Buffer RA	36mL	使用前加入对应体积β-巯基乙醇
Proteinase K	500μl	-20°C保存
Nuclease-free Water (DEPC-treated)	30mL	
RNase-free DNase	500μl	-20°C保存
Buffer DB	3.5mL	
Buffer RW1	40mL	
Buffer RW2	12mL	使用前加入 48ml 无水乙醇
Buffer TB	10mL	
Spin Columns with Collection Tubes-RC	50 套	
1.5ml Centrifuge Tubes (DNase/RNase-free)	50 个	

注意事项:

自备材料: β-巯基乙醇、无水乙醇

1. Buffer RA 可能会形成沉淀, 如果有沉淀出现, 请于 60°C加热溶解, 然后待恢复至室温后使用。
2. 操作前请根据样品数量, 按照 1 ml Buffer RA 中加入 10μl β-巯基乙醇的比例, 配制裂解液。建议该裂解液现用现配。若配好的裂解液没有用完, 可在 4°C保存 1 个月。
3. 首次使用, 请在 Buffer RW2 中加入 48 ml 无水乙醇, 并做好标记。

操作步骤（仅供参考）：

1. 细胞或组织的裂解

1) 贴壁细胞：

彻底吸弃培养液，按照每 6-10cm² 面积加入 600μl Buffer RA（使用前请加入β-巯基乙醇），用移液器吹打 3-5 次使细胞裂解。少于 6-10cm² 面积加入 350μl Buffer RA。

2) 细胞悬液：

500×g 离心收集细胞，彻底吸弃培养液，每 5×10⁶-1×10⁷ 细胞加入 600μl Buffer RA（使用前请加入β-巯基乙醇），用移液器吹 3-5 次使细胞裂解。少于 5×10⁶ 细胞加入 350μl Buffer RA。

3) 动物组织：

取 600μl Buffer RA（使用前请先检查是否已加入β-巯基乙醇）加入到 1.5ml 离心管中。组织样品经液氮研磨后，将研磨成粉末状的样品（20-30mg）加入到上述 1.5 ml 离心管中，剧烈震荡混匀直至裂解液中无明显沉淀。若组织样本低于 20mg，则加入 350μl Buffer RA。

2. 向上述组织裂解混合物中加入 590μl Nuclease-free Water (DEPC-treated)和 10μl Proteinase K，混匀后 56°C 孵育 10-20min。

3. 12,000 rpm 离心 2min，小心吸取管中的上清液转移至新的 1.5ml 离心管中，尽量避免触及管中的细胞碎片沉淀。

4. 缓慢加入 0.5 倍上清液体积的无水乙醇，混匀（此时可能会出现沉淀），将得到的溶液和沉淀一起转入 Spin Columns with Collection Tubes-RC（吸附柱放在收集管中），12,000 rpm 离心 30s，弃除收集管中的废液，将吸附柱放回收集管中。

5. 向吸附柱中加 350μl Buffer RW1，12,000 rpm 离心 30s，弃除收集管中的废液，将吸附柱放回收集管中。

6. 配制 RNase-free DNase 工作液：取 10μl RNase-free DNase，加入至新的 RNase-free 离心管中，加 70μl Buffer DB，混合均匀，配制成终体积为 80μl 的 RNase-free DNase 工作液。

7. 向吸附柱中央加入 80μl RNase-free DNase 工作液，室温放置 15min。

8. 向吸附柱中加入 350μl Buffer RW1，12,000 rpm 离心 30s，弃除收集管中的废液，将吸附柱放回收集管中。

9. 向吸附柱中加入 500μl Buffer RW2（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm 离心 30s，弃除收集管中的废液，将吸附柱放回收集管中。

10. 重复操作步骤 9 一次。

11. 将吸附柱放回收集管中，室温 12,000 rpm 离心 3min。

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。

12. 将吸附柱放入一个新的 1.5ml 离心管（DNase/RNase-free），加入 50-100μl Buffer TB，室温放置 1-2min，12,000 rpm 离心 1min，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. 本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床诊断或治疗，食品及化妆品等用途。请勿存放于普通住宅区。

2. 为了您的安全和健康，请穿好实验服并佩戴一次性手套和口罩操作。