

动物总 RNA 提取试剂盒（离心柱式）

HX3016

产品简介

动物总 RNA 提取试剂盒（离心柱式）是一种基于离心柱法从动物组织或培养的动物细胞中安全、快速、便捷、稳定、高效、高质量地提取总 RNA 的试剂盒。总 RNA 包括大于 200 个核苷酸的 RNA（也常被称为总 RNA）和小于 200 个核苷酸的小 RNA（small RNA）。动物组织或细胞中的 RNA 按照长度可以分为长链 RNA（long RNA）和小 RNA（small RNA），长链 RNA 通常大于 200 nt，而小 RNA 通常小于 200 nt。长链 RNA 按照是否编码蛋白或多肽可以分为长链非编码 RNA（long noncoding RNA, lncRNA）和 mRNA。小 RNA 主要包括非编码的 5.8S rRNA、5S rRNA、tRNA、microRNA、siRNA、piRNA、tsRNA、srRNA 等。本试剂盒使用安全，通过特殊的柱纯化介质进行总 RNA 分离纯化，能有效避免传统的 Trizol 法抽提时使用的酚、氯仿等有毒有害有机试剂；使用快速、便捷，采用柱纯化，无需繁琐的 RNA 沉淀步骤，抽提操作过程仅 25-30 min。相比于传统的 Trizol 提取法，操作流程显著简化，缩短了提取时间，降低了 RNA 降解的风险；提取总 RNA 的得率高，提取效果经反复测试，100 万个冻存的 HeLa 细胞能提取得到约 15-20 μg 总 RNA，5 mg 冻存的小鼠肝组织能提取得到约 6-10 μg 总 RNA，5 mg 冻存的小鼠肾组织能提取得到约 3-5 μg 总 RNA，不同来源的样品可能有所差异，通常新鲜样品的得率高于冻存样品；提取得到的总 RNA 纯度高，显著优于 Trizol 方法，提取得到的总 RNA 的 A260/A280 通常为 2.0-2.2，A260/A230 通常为 1.9-2.1。

本试剂盒适用于新鲜或冻存的动物组织或细胞总 RNA 与小 RNA 的提取，推荐的细胞用量为 50-100 万，组织用量为 3-5mg。提取得到的 RNA 可用于反转录、RT-PCR、qPCR、Northern、点杂交、纯化 mRNA、体外翻译、RNase protection assay、cDNA 克隆等下游实验；也可用于基因表达芯片分析高通量测序等对 RNA 质量要求较高的情况。

产品应用

基于离心柱法从动物组织或培养的动物细胞中安全、快速、便捷、稳定、高效、高质量地提取总 RNA。

储存条件

室温保存，一年有效。

产品信息

组分编号	组分名称	规格 50 T
HX3016-1	Buffer S1 (裂解液)	16 ml
HX3016-2	Buffer P1 (结合液 I)	16 ml
HX3016-3	Buffer P2 (结合液 II)	38 ml
HX3016-4	Buffer WB1 (洗涤液 I)	32 ml
HX3016-5	Buffer WB2 (洗涤液 II)	63 ml
HX3016-6	Buffer EB (洗脱液)	5 ml
HX3016-7	RNA 纯化柱及废液收集管	50 套
HX3016-8	RNA 洗脱管	50 个

注意事项

- 对于富含 RNase 的样品 (如动物组织), 建议使用前在 Buffer S1 中添加二硫苏糖醇 (Dithiothreitol, DTT) 至终浓度为 40mM (例如 1 ml Buffer S1 中加入 20 μ l 2 M DTT) 或 β -巯基乙醇至终浓度为 1% (如 1 ml Buffer S1 中加入 10 μ l β -巯基乙醇), 含 DTT 或 β -巯基乙醇的裂解液可在室温放置 1 个月。
- 通过本试剂盒提取得到的 RNA 已经去除绝大多数 DNA, 通常情况无需 DNase 处理。后续如进行某些对 DNA 残留较敏感的实验, 则需要在使用说明中步骤 5 离心后, 在纯化柱中加入适量 DNase I 进行消化, 具体请参考使用说明。
- 本试剂盒提供的所有试剂和耗材都是 RNase-free, 操作时应小心, 避免被污染。所有自行准备的试剂和耗材也都应是 RNase-free。如果可能有 RNase 污染, 可考虑用 0.01% 的 DEPC 水浸泡过夜, 然后高温高压灭菌并烘干。操作时应避免对着样品或所使用的试剂盒耗材呼气或说话, 以防 RNase 污染。建议戴一次性口罩操作。
- 使用冻存的细胞或组织提取 RNA 的效果通常比新鲜的细胞或组织差一些。因为在细胞或组织冻融过程中一些细胞或组织内的 RNase 会被释放出来并剪切样品中的 RNA。进行保存以保证样品 RNA 的完整性。
- 所有操作均在室温进行, 操作时无需冰浴。所有离心也均在室温进行。
- 废液收集管在一次提取中需多次使用, 切勿中途丢弃。
- Buffer P1、Buffer P2 和 Buffer WB2 中含有乙醇, 使用后须旋紧瓶盖以防挥发, 并须按照易燃试剂的相关规范进行存放和使用。
- 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, 不得存放于普通住宅内。为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明

1. 实验材料的准备，与样品的裂解：

- a. 细胞样品：收集 50-100 万左右的细胞。对于悬浮细胞，1000-2000×g 离心 1 min 后弃上清，加入 300 μl Buffer S1，轻轻吹打 8-10 次至固悬物溶解、溶液澄清；对于贴壁细胞，吸净培养液后加入 300 μl Buffer S1，轻轻吹打 5-10 次至固悬物溶解、溶液澄清，转移至一洁净离心管内。
- b. 组织样品：取 3-5 mg 动物组织，置于液氮中研磨成粉末，立即加入 300 μl Buffer S1。也可将组织置于 1.5 ml 离心管中，迅速加入 300 μl Buffer S1，用微型电动匀浆器匀浆，或者用普通玻璃匀浆器进行匀浆。研磨或匀浆后，轻轻吹打匀浆液 8-10 次，室温放置 3-5 min。然后约 14,000×g 离心 2 min，将上清液移至新的离心管中。对于比较容易裂解且匀浆很充分的组织（如肝组织、脑组织等）可以不用高速离心而直接进入步骤 2。

注：细胞的数量一般不超过 200 万，动物组织的用量一般不超过 10 mg，用量过多可能会因裂解不充分导致得率下降。如果裂解后仍有粘稠物，需增加吹打次数至溶液完全澄清。对于富含 RNase 的样品，Buffer S1 中宜添加 DTT 至终浓度为 40 mM 或添加 β-巯基乙醇至终浓度为 1%。

2. 加入 300 μl Buffer P1 至裂解产物中，轻轻颠倒混匀 3-5 次。此时可能会有沉淀物产生，属于正常现象。
3. 将混合物（包括沉淀物）转移至纯化柱内，12,000×g 离心 30 sec，回收收集管内液体至一新的 1.5 ml 离心管。

注：对于一些特殊的样品，如出现溶液未完全通过时，可延长离心时间至 1-2 min，或者加大离心力至 16,000×g。对于一些能快速启动达到 12,000×g 的离心机，离心 30 sec 已经足够，对于一些启动速度缓慢的离心机本步骤及后续步骤中的 30 秒离心宜调整为 60 sec。

4. 向回收的液体中加入 700 μl Buffer P2，混匀后，将混合物（包括沉淀物）分两次通过上一步的纯化柱，每次 12000×g 离心 30 sec 后倒弃收集管内液体。

注：加入 Buffer P2 后溶液总体积超过纯化柱的容量（约 750 μl），因此须分成 2 次过柱，即将一半的混合物（约 650 μl）加入纯化柱内后 12000×g 离心 30 sec，倒弃收集管内液体，再将剩余的混合物加入纯化柱内 12000×g 离心 30 sec，并倒弃收集管内液体。

5. 加入 600 μl Buffer WB1，12,000×g 离心 30 sec，倒弃收集管内液体。
6. **选做：**通过本试剂盒抽提得到的 RNA 已经去除绝大多数 DNA，通常情况无需 DNase 处理。后续如进行某些对 DNA 残留较敏感的实验时，可在本步骤离心后，在纯化柱中加入 80 μl 含 10 U DNase I 的酶溶液（每 80 μl 酶溶液按照 71.8 μl 水加 8 μl 10X Reaction Buffer 加 0.2 μl 50 U/μl DNase I 混合配制而成），室温放置消化 15 min。消化结束后，不需要进行离心等任何额外的操作，直接进入步骤 7。
7. 加入 600 μl Buffer WB2，12,000×g 离心 30 sec，倒弃收集管内液体。

8. 重复步骤 7 一次。
9. 最高速 (约 14,000-16,000×g) 离心 2 min, 去除残留的液体。
10. 将 RNA 纯化柱置于 RNA 洗脱管中, 加入 30-50 μ l Buffer EB, 室温放置 2-3 min, 最高速离心 30 sec, 所得溶液即为纯化的总 RNA。

注: Buffer EB 需要加到纯化柱柱面中央, 使其被完全吸收。如需获得更高浓度的样品, 可把 Buffer EB 的体积减小至 20 μ l, 但洗脱下来的总 RNA 量会相对减少。室温较低时, Buffer EB 在 37°C 预热片刻对得率有所帮助。此外, 洗脱后的溶液再次加回到原纯化柱再离心洗脱一次, 可提高得率约 10-30%; 或者在第一次洗脱后使用新的 Buffer EB 再洗脱一次, 会获得约为第一次洗脱量 15-35% 的 RNA。