动物小 RNA 提取试剂盒（离心柱式，<200 nt)

HX3018

产品简介

动物小 RNA 提取试剂盒（离心柱式，<200 nt）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 miRNA 等小于 200 个核苷酸（nucleotide, nt）的小 RNA（small RNA）的试剂盒。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小 RNA 分离纯化，不仅能有效避免传统的 Trizol 法提取时使用的酚、氯仿等有毒有害有机试剂，也能有效避免使用类似于 Trizol 的裂解液裂解样品、接着使用氯仿分层、后续再进行柱纯化等涉及的有毒有害有机试剂；使用快速、便捷，采用柱纯化，无需繁琐的 RNA 沉淀步骤，提取操作过程仅 20-25 min，相比于传统的 Trizol 抽提法，能够有效去除大分子 RNA，操作流程显著简化，缩短了提取时间，降低了 RNA 降解的风险；提取获得的小分子量 RNA 得率高、纯度好，100 万培养动物细胞约能抽提得到 1-2 μg 小 RNA，5 mg 小鼠肝脏组织约能抽提得到 1-1.5 μg 小 RNA。适用于新鲜或冻存的动物组织或细胞样品小 RNA 的提取。样品的用量对提取效果影响较大，样品用量过多会导致在第一次过柱时不能最大程度去除 200 nt 以上的 RNA，通常建议培养细胞的用量不超过 100 万，动物组织的用量不超过 5 mg。A260/A280 通常为 2.0-2.2。

本试剂盒用于提取 18-200 nt 小 RNA，主要包括 5.8S rRNA、5S rRNA、tRNA、microRNA (miRNA)，以及 short interfering RNA（siRNA）、piRNA、tsRNA 等，能够有效去除基因组 DNA 和 200 nt 以上的 RNA，如 28S rRNA、18S rRNA、mRNA 等。提取得到的小 RNA 可用于反转录、RT-PCR、qPCR、Northern 等常规实验，也可以用于基因芯片分析（microarray）、高通量测序（high throughput sequencing）等对小 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 miRNA 等小于 200 个核苷酸（nucleotide, nt）的小 RNA（small RNA）。

储存条件

室温保存，一年有效。

E-mail：service@ribonext.com
TEL：19520861352
RiboNext.com
RiboNext Biotechnology Co., LTD. (Ningbo, China)

产品信息

组分编号	组分名称	规格 50 T
HX3018-1	Buffer S1（裂解液）	16 ml
HX3018-2	Buffer P1（结合液 I）	16 ml
HX3018-3	Buffer P2（结合液 II）	38 ml
HX3018-4	Buffer WB（洗涤液）	63 ml
HX3018-5	Buffer EB（洗脱液）	5 ml
HX3018-6	RNA 纯化柱及废液收集管	100 套
HX3018-7	RNA 洗脱管	50 个

注意事项

1. **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 40 mM（如 1 ml Buffer S1 中加入 20 μl 2M DTT）或 β-巯基乙醇至终浓度为 1%（如 1 ml Buffer S1 中加入 10μl β-巯基乙醇），含 DTT 或 β-巯基乙醇的 Buffer S1 可在室温放置 1 个月。**
2. 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。
3. 使用冻存的细胞或组织抽提小 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。
4. 本试剂盒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。
5. 废液收集管在一次抽提中需多次使用，切勿中途丢弃。Buffer P1、Buffer P2 和 Buffer WB 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。
6. 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：

E-mail：service@ribonext.com
TEL：19520861352
RiboNext.com
RiboNext Biotechnology Co., LTD. (Ningbo, China)

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 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，用微型电动匀浆器或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：细胞的数量不超过 100 万，动物组织的用量不超过 5 mg，细胞或组织用量过多会导致大分子 RNA 不能去除完全。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）转移至第 1 个纯化柱内，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：对于一些非常特殊的样品，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 sec 离心宜调整为 60 sec。

4. 向溶液中加入 700 µl Buffer P2，混匀后，将混合物（包括沉淀物）分两次转移至第 2 个纯化柱内，每次 12,000g 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 WB，12,000 g 离心 30 sec，倒弃收集管内液体。

6. 重复步骤 5 一次。

7. 最高速（约 14,000-16,000 g）离心 2 min，去除残留液体。

8. 将 RNA 纯化柱置于 RNA 洗脱管中，加入 30-50 µl 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小 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 ul，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 10-35%的小 RNA。

E-mail：service@ribonext.com
TEL：19520861352
RiboNext.com
RiboNext Biotechnology Co., LTD. (Ningbo, China)