

RNA/蛋白提取试剂盒

HX3032

产品简介

RNA/蛋白提取试剂盒是一种简单、方便、快速地从培养的动物细胞或组织、植物、酵母、细菌或病毒等单个样品中分步分别提取 RNA 和蛋白质的试剂盒。特别适合用于比较珍贵的样品，可以实现一个样品同时用于 RNA 和蛋白质的抽提。不仅适用于少量样品的提取，还可用于大量不同样品的同时处理，特别适合同一个样品中 RNA 和蛋白质后续的同步检测。操作简单，使用便捷，仅需约 1 h 即可完成 RNA 和蛋白质的提取。基于特殊裂解液多组分分离的原理，分步提取同一个样品的 RNA 和蛋白质。在样品中加入裂解液后进行裂解或匀浆，使细胞或组织充分裂解，加入氯仿混匀并离心后分为三层，包括上层无色水相（含 RNA），中间相（含 DNA 和蛋白质）和下层红色有机相（含 DNA 和蛋白质）。RNA 溶于水相中，取出水相后用异丙醇沉淀即可获得纯化的 RNA；用无水乙醇沉淀中间相和下层红色有机相的 DNA，并进一步用异丙醇沉淀有机相，可获得纯化的蛋白质。这些沉淀通过洗涤去除其它杂质成分后可用于后续的实验。采用高品质抽提试剂，提供的特殊裂解液可以有效抑制 RNA 的降解，保持样品中 RNA 的完整性，既可用于小量样品（例如 5-100 mg 组织或 20-500 万个细胞），也适用于大量样品（例如大于 1 g 的组织或超过一千万的细胞）。通常，每一百万细胞可抽提得到 5-15 μg RNA，每毫克组织可抽提得到 1-10 μg RNA。

抽提所得的 RNA 和蛋白质纯度高，用途广泛，总 RNA 无蛋白、DNA 污染，溶于 DEPC 水或不含 RNase 的超纯水后的 A260/280 值为 1.8-2.0，可直接用于 RT-PCR、cDNA 克隆、纯化 mRNA、Northern blot、Dot blot、体外翻译、以及 RNase protection assay 等实验，也可以用于基因表达芯片分析、高通量测序等对 RNA 质量要求较高的实验；提取的蛋白可用于 SDS-PAGE、Western blot、免疫沉淀等分析。

产品应用

从培养的动物细胞或组织、植物、酵母、细菌或病毒等单个样品中分步分别提取 RNA 和蛋白质。

储存条件

4℃保存，一年有效。

产品信息

组分编号	组分名称	规格	规格
		25 T	100 T
HX3032-1	Buffer P1 (裂解液)	25 ml	100 ml
HX3032-2	Buffer WB1 (洗涤液 I, 第一次使用前需加入 44 ml/176 ml 无水乙醇)	22 ml	88 ml
HX3032-3	Buffer WB2 (洗涤液 II, 第一次使用前需加入 112.5 ml/450 ml 无水乙醇)	7.5 ml	30 ml
HX3032-4	Buffer EB (蛋白溶解液)	5 ml	20 ml

注意事项

1. 用户需自备无水异丙醇、氯仿、无水乙醇、DEPC 水或超纯水 (DNase/RNase-Free, Sterile)。
2. 所有离心管, 枪头及相关溶液都必须无 RNA 酶污染。耐高温器物可 150°C 烘烤 4 h 以去除 RNA 酶, 其它器物去除 RNA 酶可考虑用 0.01% 的 DEPC 水浸泡过夜, 然后灭菌, 烘干。
3. 使用冻存的细胞或组织抽提总 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。如果不能及时抽提 RNA, 推荐先加入适量 Buffer P1, 并裂解样品后冻存。
4. 必须戴一次性手套操作, 且尽量不要对着 RNA 样品呼气或说话, 以防 RNA 酶污染。建议戴一次性口罩操作。裂解液含有毒物质, 避免接触皮肤或吸入。为防止溅入眼睛, 请戴防护眼镜或使用透明保护屏。如皮肤接触裂解液, 请立即用大量去垢剂和水冲洗, 如仍有不适, 请听取医生意见。
5. **首次使用前 Buffer WB1 需添加 44 ml/176 ml 无水乙醇, Buffer WB2 需添加 112.5 ml/450 ml 无水乙醇, 混匀, 并在瓶上做好标记。**
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. 准备工作:

Buffer WB1、Buffer WB2 第一次使用前需分别加入相应的无水乙醇。

2. 样品的裂解:

a. 细胞裂解或组织匀浆。

- (a) 贴壁细胞: 吸尽培养液, 每 10 cm² 细胞加入 1 ml Buffer P1。一般 6 孔板每孔加 1 ml Buffer P1, 12 孔板每孔加 0.5 ml Buffer P1。晃动 3-5 下, 再用枪吹打 2-3 下, 确保全部裂解, 然后吸至离心管中。

(b) 悬浮细胞：离心收集细胞，吸尽液体，每 500-1000 万动植物或酵母细胞，或 1000 万细菌，加入 1 ml Buffer P1。用枪吹打或适当 Vortex，确保全部裂解。

注：某些酵母和细菌如裂解不充分，可用匀浆器匀浆，以确保全部裂解。

(c) 组织：先将组织剪切成小块，放入普通玻璃匀浆器内。每 50-80 mg 组织加入 1 ml Buffer P1，匀浆。对于 RNA 完整性要求比较高的情况，推荐先液氮冷冻组织块，然后在低温下用研钵研碎组织，随后再加入 Buffer P1 进行总 RNA 抽提。

b. 对于某些蛋白，多糖或脂含量很高的细胞或组织，Buffer P1 裂解后可能会有不溶物或油脂状漂浮物。需 12,000×g 在 4°C 离心 10 min，然后吸取澄清的 Buffer P1 裂解产物至一新的离心管中。

c. 室温孵育 5 min，使样品充分裂解。

d. 按每毫升 Buffer P1 加入 0.2 ml 氯仿，Vortex 混匀或剧烈晃动 15 sec，室温孵育 2-3 min。

e. 12,000×g 在 4°C 离心 15 min。此时可见分层，分别为无色水相（上层），中间层和红色有机相（下层）。其中上层无色水相用于 RNA 的提取（步骤 3），中间层和下层红色有机相用于蛋白质的提取（步骤 4）。

3. RNA 的提取：

a. 吸取含总 RNA 的上层无色水相至一新的离心管中，每毫升最初的 Buffer P1 约可吸取 0.5-0.55 ml。

注：不要吸到中间层和红色有机相（下层）。如果要分离蛋白质可保留这两部分，4°C 可存放过夜。

b. 按每毫升最初的 Buffer P1 加入 0.5 ml 无水异丙醇，颠倒数次混匀，室温沉淀 10 min。如果希望提取 micro RNA 等小 RNA，推荐 80°C 沉淀过夜。

c. 12,000×g 在 4°C 离心 10 min，在管底可见 RNA 沉淀，弃上清。

d. 每毫升最初的 Buffer P1 加入 1 ml Buffer WB1，Vortex 或颠倒混匀。

e. 7,500×g 在 4°C 离心 5 min，弃上清。再用离心机瞬时离心 (>5,000×g)，小心吸尽液体。

f. 待 RNA 略干后，加入 20-50 μ l DEPC 水或超纯水 (DNase/RNase-Free, Sterile) 溶解，-80°C 冻存。

注：切勿让 RNA 过分干燥，否则将极难溶解，且测出的 A260/280 值会低于 1.6。

4. 蛋白的提取：

a. 接 RNA 提取步骤 3a，尽可能去除上层的水相后，保留中间相和红色有机相（下层）。

b. 按每毫升最初的 Buffer P1 加入 0.3 ml 无水乙醇，颠倒数次混匀。室温孵育 2-3 min。

c. 2,000×g 在 4°C 离心 5 min，吸取上清至一新的离心管中。

d. 按每毫升最初的 Buffer P1 加入 1.5 ml 无水异丙醇的量，在上清中加入适量无水异丙醇，室温孵育 10 min。

e. 12,000×g 在 4°C 离心 10 min，弃上清。

f. 用 Buffer WB2 洗涤蛋白质沉淀。每毫升最初的 Buffer P1 加入 1 ml Buffer WB2，室温孵育 20 min。蛋白质在 Buffer WB2 中，4°C 可保存一个月，-20°C 可保存一年。

- g. 7500×g 在 4°C离心 5 min, 弃上清。
- h. 重复步骤 4f-g 2-3 次。
- i. 按每毫升最初的 Buffer P1 加入 1.5-2 ml 无水乙醇, Vortex 混匀。室温孵育 20 min。
- j. 7500×g 在 4°C离心 5 min, 弃上清。
- k. 室温放置晾干蛋白质沉淀 5-10 min, 用 200 μ l Buffer EB 溶解蛋白质, 反复吸打, 可用 50°C温浴使其完全溶解。
- l. 10,000×g 在 4°C离心 10 min 去除不溶物。
- m. 分离得到的蛋白质样品可用于下游实验或-20°C保存备用。