

RNA/DNA/蛋白提取试剂盒

HX3033

产品简介

RNA/DNA/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、基因组 DNA 和蛋白质的试剂盒。特别适合用于比较珍贵的样品，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，可以实现一个样品同时用于 RNA、DNA 和蛋白的抽提。操作简单，使用便捷，仅需约 1 h 即可完成 RNA、DNA 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、DNA 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可溶物，可获得纯化的 DNA；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、DNA 和蛋白质纯度高，用途广泛。抽提所得的总 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；抽提所得的 DNA 适用于 Southern 杂交、基因组 DNA 的 PCR 扩增、基因组 DNA 的甲基化等修饰分析及基因组 DNA 文库的构建等实验；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、基因组 DNA 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
HX3033-1	Buffer P1 (裂解液)	25 ml	100 ml
HX3033-2	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
HX3033-3	Buffer WB2 (洗涤液 II)	66 ml	260 ml
HX3033-4	Buffer WB3 (洗涤液 III, 第一次使用前需加入 112.5 ml/450 ml 无水乙醇)	7.5 ml	30 ml
HX3033-5	Buffer EB1 (DNA 溶解液)	15 ml	60 ml
HX3033-6	Buffer EB2 (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。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。Buffer P1 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 Buffer P1, 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。
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. **首次使用前 Buffer WB1 需添加 44 ml/176 ml 无水乙醇, Buffer WB3 需添加 112.5 ml/450 ml 无水乙醇, 混匀, 并在瓶上做好标记。**
5. 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 WB3 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 混匀或猛烈晃动 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分别用于 DNA 和蛋白质的提取(步骤 4、5)。

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 DNA 和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 μl 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. DNA 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 以沉淀 DNA。如果需提取蛋白质，吸取上清至一新的离心管中，-80°C 可存放 1-2 个月，操作步骤见步骤 5。

d. 吸除上清后，用 Buffer WB2 洗涤 DNA 沉淀，每毫升最初的 Buffer P1 加入 0.8 ml Buffer WB2。室温孵

育 30 min, 期间轻柔颠倒混匀 2-3 次。

注: DNA 在 Buffer WB2 中 2 h 内稳定。

e. 2,000×g 在 4°C 离心 5 min, 弃上清。

f. 重复步骤 4d-e 步骤一次。

注: 对于 >200 μg 的 DNA, 步骤 4d-e 须重复两次, 即共计 3 次。

g. 按每毫升最初的 Buffer P1 加入 1.5 ml Buffer WB1 洗涤 DNA 沉淀, 室温孵育 10-20 min, 期间轻柔颠倒混匀 2-3 次。

注: 加入 Buffer WB1 的 DNA 沉淀在 4°C 可存放 1-2 个月。

h. 2,000×g 在 4°C 离心 5 min, 弃上清。

i. 室温放置晾干 DNA 沉淀 5-15 min, 无明显液体后, 加入适量 Buffer EB1 溶解。可 60°C 温浴或适当增加 DNA 溶解液量以促进 DNA 溶解。

注:

- 1) 从 50-70 mg 组织或者 10⁷ 个细胞中分离的 DNA 沉淀溶于 300-600 μl DNA 溶解液, DNA 的浓度通常为 0.2-0.3 μg/μl。
- 2) 提取的 DNA 沉淀可能不易溶于水和中性 Tris 缓冲液中。
- 3) 从某些样品 (尤其是组织) 中提取的 DNA 中可能包含一些胶状的不溶物, 可 12,000×g 在 4°C 离心 10 min 去除。

5. 蛋白的提取:

a. 接 DNA 提取步骤 4c, 取沉淀 DNA 后的上清。

b. 每毫升最初的 Buffer P1 加入 1.5 ml 无水异丙醇, 室温孵育 10 min。

c. 12,000×g 在 4°C 离心 10 min, 弃上清。

d. 用 Buffer WB3 洗涤蛋白质沉淀。每毫升最初的 Buffer P1 加入 1 ml Buffer WB3, 室温孵育 20 min。蛋白质在 Buffer WB3 中, 4°C 可保存一个月, -20°C 可保存一年。

e. 7500×g 在 4°C 离心 5 min, 弃上清。

f. 重复步骤 5d-e 2-3 次。

g. 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。

h. 7500×g 在 4°C 离心 5 min, 弃上清。

i. 室温放置晾干蛋白质沉淀 5-10 min, 用 200 μl Buffer EB2 溶解蛋白质, 反复吸打, 可用 50°C 温浴使其完全溶解。

j. 10,000×g 在 4°C 离心 10 min 去除不溶物。分离得到的蛋白质样品可用于下游实验或 -20°C 保存备用。