

动物组织/细胞 RNA 提取试剂盒

产品介绍

该试剂盒对经典的异硫氰酸胍抽提 RNA 的方法进行了改良。改良后的裂解液能迅速裂解细胞，释放出 RNA 的同时灭活 RNase。RNA 在高离子盐状态下选择性吸附于离心柱内硅基质膜上，再通过一系列漂洗和离心等步骤进一步将蛋白等杂质去除，最后用 DEPC-treated ddH₂O 将 RNA 从硅基质膜上洗脱。操作简单，全过程可在 40 分钟之内完成。

组分和说明

| | |
|---------------------------------|-------------|
| 组分 | R200801-50T |
| 纯化套件（吸附柱+收集管） | 50 套 |
| Buffer Rlysis-AG | 25mL |
| GT Solution (concentrate) | 18ml |
| NT Solution (concentrate) | 6ml |
| DEPC-treated ddH ₂ O | 2.5ml |
| 说明书 | 1 份 |

产品应用

获得的 RNA OD260/OD280 一般为 2.0 左右，可直接用于 RT-PCR、Northern Blot、斑点杂交等实验。

产品优势

1. 操作简单快速，整个过程 40 分钟左右完成。
2. RNA 纯度高，OD260/OD280 一般为 2.0 左右。
3. 使用安全，操作过程中无需使用酚、氯仿等有毒试剂。
4. 纯化柱吸附量大，稳定性好，重复性好。

使用说明

试剂准备

1. 自备试剂：无水乙醇、DEPC 等。
2. 按瓶身标签说明在 GT Solution、NT Solution 中加入相应量的无水乙醇，混匀后在瓶身做好标记。于室温密封保存。
 每次使用后请将瓶盖盖紧，以保持 GT Solution、NT Solution 中的乙醇含量。（18 ml GT Solution 中应加入 12 ml 无水乙醇，36 ml GT Solution 中应加入 24 ml 无水乙醇；6 ml NT Solution 中应加入 24 ml 无水乙醇，12 ml NT Solution 中应加入 48 ml 无水乙醇。）
3. 每次使用前请检查 Buffer Rlysis-AG 是否有沉淀，如有沉淀请于 37. C 溶解沉淀后使用。

标准抽提步骤

1. 取 450 μ l Buffer Rlysis-AG 加入 1.5 ml RNase-free 的离心管中备用。
2. 细胞裂解或组织匀浆。
 (a)贴壁细胞。
 吸尽培养液，每 10cm² 细胞加入至 1 中的 1.5 ml RNase-free 的离心管中。一般 6 孔板每孔细胞加至 **1 中的 1.5 ml RNase-free 的离心管**中，12 孔板 2 孔细胞加至 1 中的 1.5 ml RNase-free 的离心管中。晃动 3-5 下，再用枪吹打 2-3 下，确保全部裂解。12,000 rpm 4°C 离心 3 min，将上清移至 1.5 ml RNase-free 的离心管中。
 (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，加至 **1 中的 1.5 ml RNase-free 的离心管**中。用枪吹打或适当 Vortex，确保全部裂解。

12,000 rpm 4°C离心 3 min , 将上清移至 1.5 ml RNase-free 的离心管中。

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。

取 25~50 mg 动物组织用液氮研磨成粉末, 加至 1 中的 1.5 ml RNase-free 的离心管中, 立即震荡混匀, 震荡 2 min 后, 室温再放置 3 min。 (液氮研磨过程中要避免样品融化, 使用的研钵与药匙等工具应事先用液氮预冷。研磨后的样品应迅速加入裂解液中震荡混匀, 避免 RNA 降解。样品转入离心管时避免带入液态氮, 因为液氮在封闭的离心管中迅速转变成气体可能引起离心管的爆裂, 请注意安全。) 12,000 rpm 4°C离心 3 min , 将上清移至 1.5 ml RNase-free 的离心管中。

3. 加入 1/2 体积无水乙醇, 充分混匀。(即使出现沉淀也不要离心。)

4. 将吸附柱放入收集管中, 用移液器将溶液全部转移至吸附柱中, 静置 1 min , 室温 12,000 rpm 离心 1 min , 倒掉收集管 中废液。

5. 将吸附柱放回收集管中, 加入 500 µl GT Solution , 静置 1 min, 室温 10,000 rpm 离心 1 min, 倒掉收集管中废液。 (GT Solution 使用前请检查是否按比例加入无水乙醇。)

6. 将吸附柱放回收集管中, 加入 500 µl NT Solution , 静置 2 min, 室温 10,000 rpm 离心 1 min, 倒掉收集管中废液。 (NT Solution 使用前请检查是否按比例加入无水乙醇。)

7. 将吸附柱放回收集管中, 室温 12,000 rpm 离心 2 min。 (此步绝不可省略, 否则残余的乙醇会严重影响得率和后续实验。)

(将吸附柱打开盖子于室温放置数分钟, 以彻底晾干吸附材料中残留的乙醇, 乙醇的残留会影响 RNA 的产量和后续的实验。)

8. 将吸附柱放入 RNase-free 的 1.5 ml 离心管中, 在吸附膜中央加入 30~50 µl DEPC-treated ddH₂O, 静置 2 min , 室温 12,000 rpm 离心 2 min , 将所得到的 RNA 溶液置于-70. C 保存或用于后续试验。(RNA 应在-70°C 保存, 以防降解, 或保存在 RNA 保存液 (B644211) 中。

保存条件:

试剂盒于常温运输, 4°C保存。有效期见包装。