

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。