

超纯总 RNA 提取试剂盒

货号	规格
AF501	50 次

适用范围:

总 RNA 提取

试剂盒组分:

Buffer RL	35ml
Buffer RW1	40ml
Buffer RW2	11ml
Rnase-free Water	5ml
Rnase-free 吸附柱 RA	50 个
Rnase-free 吸附柱 RB	50 个
50×DTT Solution	700ul

保存条件:

50×DTT Solution	-20° C
其它组分	室温

产品说明

本试剂盒用于从各种样品中提取纯化高品质总 RNA，采用硅基质膜吸附 RNA 进行纯化，经洗脱的 RNA 可直接用于各种下游实验。由本试剂盒提取 RNA 分子量大于 200 碱基，纯度高，几乎无 DNA 残留。如果是对微量 DNA 非常敏感的 RNA 实验，残留的 DNA 可利用无 RNase 的 DNase I 在柱上进行消化去除。提取的 RNA 可用于 Northern Blot、Dot Blot 、RT-PCR 和体外翻译等实验。

自备试剂

无水乙醇（新开封或提取 RNA 专用）。

操作步骤

1. 取 600ul 裂解液 RL 和 12ul 50xDTT solution, 转入 1.5ml 离心管（自备）中备用。
2. 取样品 50-100 mg, 加入液氮迅速研磨成粉末, 将粉末转入上述装有裂解液的离心管中, 立即用手振荡 30 秒, 充分裂解。
3. 13,000×g 离心 3 分钟, 取上清转入一个过滤柱 RA 中(若上清表面有漂浮物, 用枪头跳开吸取下面液体即可), 13,000×g 离心 1 分钟, 收集下滤液(含有总 RNA)于收集管中, 进行下一步操作。
4. 较精确估计上清液体积, 加入 0.5 倍体积的无水乙醇, 迅速混匀, 加入乙醇后可能会产生沉淀, 但不影响后续试验。
5. 将步骤 4 得到的溶液全部加入到已装入收集管的吸附柱 RB 中, 若一次不能将全部溶液加入吸附柱中, 请分两次转入。13,000×g 离心 15 秒, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱重新放回收集管中。
6. 向吸附柱中加入 700ul Buffer RW1, 13,000×g 离心 1 分钟, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱重新放回收集管中。
7. 向吸附柱中加入 500ul Buffer RW2 (使用前检查是否加入无水乙醇), 13,000×g 离心 15 秒, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱重新放回收集管中。
8. 重复步骤 7。
9. 13,000×g 离心 2 分钟, 并将吸附柱置于室温数分钟, 以彻底晾干吸附柱中的无水乙醇。

注意: 本步的目的是将吸附柱中残余乙醇去除, 乙醇残留会影响后续的酶促反应。

10. 将吸附柱置于一个新的无 RNase 离心管中, 向吸附柱的中间部位悬空加入 30-50ul Rnase-free Water, 室温放置 1 分钟, 13,000×g 离心 1 分钟, 收集 RNA 溶液, -70°C 保存。

注意: Rnase-free Water 体积不应小于 30ul, 体积过小影响回收率。