

高纯总 RNA 提取试剂盒

货号	规格
AF505B	100 次

适用范围:

RNA 提取

试剂盒组分:

RNApure Reagent	100ml
Buffer RW1	40ml*2
Buffer RW2	11ml*2
Rnase-free Water	10ml
Rnase-free 吸附柱 RB	50 个*2

保存条件:

RNApure Reagent	4° C
其它组分	室温

产品说明

本试剂盒是基于特殊优化的裂解液 RNApure 和 RNA 吸附柱的柱式总 RNA 提取试剂盒，裂解液充分裂解并匀质化样本，采用独特的硅基质膜吸附技术，通过离心吸附柱在高盐状态下高效专一的结合溶液中的 RNA，同时最大限度的有效除去蛋白质、无机盐离子及有机杂质等；可从动物组织、植物材料、各种微生物及培养细胞等样品中快速提取总 RNA，每次可处理 30-50mg 组织或 5×10^6 细胞，可同时处理多个不同样品。本试剂盒提取得到的 RNA 可直接应用于 RT-PCR、Northern Blot、Dot Blot、体外翻译等实验。

自备试剂

氯仿(新开封或提取 RNA 专用)、无水乙醇。

操作步骤

1. 各种材料的处理

1) 植物组织：取新鲜植物组织在液氮中充分研磨或将植物组织剪碎后直接在 RNApure 中迅速研磨，每 30-50 mg 组织加入 1ml RNApure，涡旋混匀。

注意：样品体积一般不要超过 RNApure 体积的 10%。

2) 动物组织：取新鲜或-70℃冻存的动物组织尽量剪碎，每 30-50mg 组织加入 1ml RNApure，匀浆仪进行匀浆处理。或在液氮中研磨后加入 1ml RNApure 混匀。

注意：样品体积一般不要超过 RNApure 体积的 10%。

3) 单层培养细胞：吸去培养液，可直接在培养板中加入适量 RNApure（每 10cm²面积需要 1ml RNApure），用取样器反复吹打使细胞裂解。也可用胰蛋白酶处理后，将细胞溶液转移至 Rnase-free 的离心管中，13000×g 离心 5 分钟，收集细胞沉淀，仔细吸除所有上清，加入 1ml RNApure 混匀。

注意：a. 收集细胞数量不要超过 1×10^7 。

b. RNApure 加量根据培养板面积决定，不是由细胞数决定。如果 RNApure 加量不足，可能导致提取的 RNA 中有 DNA 污染。

c. 收集细胞时一定要将细胞培养液去除干净，否则会导致裂解不完全，造成 RNA 的产量降低。

4) 细胞悬液：离心收集细胞。每 5×10^6 - 1×10^7 动物、植物和酵母细胞或每 10^7 细菌细胞加入 1 ml RNApure。

注意：a. 加入 RNApure 前不要洗涤细胞，以免 RNA 降解。

b. 一些酵母和细菌细胞可能需要匀浆仪或液氮研磨处理。

5) 血液处理：直接取新鲜的血液，加入 3 倍体积 RNApure（推荐 0.25ml 全血加入 0.75ml RNApure），充分振荡混匀。

6) 可选步骤：对于蛋白、脂肪、多糖或胞外物质含量高的样品，如肌肉组织、脂肪组

织或植物的块茎，可以在匀浆处理后 13,000×g 离心 10 分钟以除去不溶物质，此时沉淀中含胞外物质、多糖和高分子量的 DNA，而 RNA 存在于上清中。

2. 样品中加入 RNApure 后反复吹打几次，使样本充分裂解。室温放置 5 分钟，使蛋白核酸复合物完全分离。

3. 以每 1ml RNApure 加入 200ul 氯仿的比例加入氯仿，盖好管盖，剧烈振荡 15 秒，室温放置 2 分钟。

4. 13,000×g 离心 10 分钟，此时样品分为三层：有机相，中间层和上层无色水相，RNA 主要在上层水相中，将上层水相移到一个新的 Rnase-free 离心管（自备）中。

5. 在得到的水相溶液中加入 0.5 倍无水乙醇，颠倒混匀。

6. 将上步所得溶液全部加入到已装入收集管的吸附柱 RB 中。若一次不能加完溶液，可分多次转入。13,000×g 离心 30 秒，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 700ul Buffer RW1，13,000×g 离心 30 秒，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。

8. 向吸附柱中加入 500ul Buffer RW2（使用前检查是否已加入无水乙醇），13,000×g 离心 30 秒，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。

9. 重复步骤 8。

10. 13,000×g 离心 2 分钟，倒掉收集管中废液。将吸附柱置于室温数分钟，彻底晾干。

注意：这一步目的是将吸附柱中残余乙醇去除，乙醇残留会影响后续酶促反应（酶切、PCR 等）。

11. 将吸附柱置于一个新的 Rnase-free 离心管（自备）中，向吸附柱的中间部位加入 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 RNA，防止降解。

注意：1) Rnase-free Water 体积不应小于 30ul，体积过小影响回收率。

2) 如果要提高 RNA 的产量，可用 30-50ul 新的 Rnase-free Water 重复步骤 11。

3) 如果要提高 RNA 浓度，可将得到的溶液重新加入到吸附柱中，重复步骤 11。