

Animal Total RNA Extraction Kit

动物样本总 RNA 提取试剂盒

产品编号	产品名称	规格
BL1179A	动物样本总 RNA 提取试剂盒	50T

产品简介:

本试剂盒可从 ≤ 20 mg 动物软组织（肝脏、脾脏、肾脏，脑等）、 $\leq 1 \times 10^7$ 个培养细胞中快速、便捷、稳定、高效地提取样本总 RNA。试剂盒基于硅胶柱纯化技术，提取过程中无需使用 DTT 及 β -巯基乙醇，整个提取过程可在 30 min 内完成。试剂盒结合 DNA 过滤技术，可高效地过滤去除基因组 DNA，提取的总 RNA 纯度高，无蛋白和其它杂质的污染，可用于 RT-PCR、Northern Blot、Poly A 纯化、RNase 保护分析和体外翻译等实验。

本品适用于动物软组织、细胞等样品的总 RNA 提取。

产品特点:

- ✧ 操作简便：30 min 内完成数个样品的总 RNA 提取；
- ✧ 高效去除基因组 DNA：独特的基因组 DNA 过滤柱，无需 DNase 处理；
- ✧ 安全低毒：无需 DTT 及 β -巯基乙醇等有毒试剂；
- ✧ RNA 纯度高：提取的 RNA 无杂质残留，适用于对纯度、完整性要求很高的下游实验。

产品组成:

编号	组分	规格
1	Buffer RL	30 mL
2	Buffer RW	40 mL
3	Buffer RW1	12 mL
4	Proteinase K	500 μ L
5	RNase-Free ddH ₂ O	15 mL
6	RNase-Free RNA Columns	50 套
7	RNase-Free gDNA Remove Columns	50 套

使用方法

第一次使用前应在漂洗液 Buffer RW1 中加入 48 mL 的无水乙醇。

1. 从动物组织中提取总 RNA

1.1 每 10~20 mg 组织加 350 μ L Buffer RL，用电动匀浆器将组织彻底匀浆，然后加入 10 μ L Proteinase K，混匀后室温放置 5 min；

注：脾脏组织建议使用 5 mg，肌肉类的组织可以增加至 50~100 mg。

1.2 12,000 rpm (~13,400 \times g) 离心 2~5 min，取上清，按第 3 步进行操作；

2. 从培养细胞中提取总 RNA

2.1 悬浮细胞：离心收集的细胞，弹打或涡旋松散细胞沉淀，加入适量 Buffer RL（用量详见下表）和 10 μ L Proteinase K，涡旋或用移液枪吸打打散细胞；

细胞量	裂解液 RL
$< 5 \times 10^6$ 个细胞	350 μ L
$\geq 5 \times 10^6$ 个细胞	600 μ L

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意：在体外研究使用，不用于诊断或治疗用途，本产品不是医疗装置。



注：本试剂盒单次可处理 $10^2\sim 10^7$ 个细胞。初次使用时，建议使用 $2\sim 5\times 10^6$ 个细胞。根据结果再调整细胞量。但不论何种情况，细胞量不要超过 1×10^7 。

2.2 贴壁细胞：可直接在培养容器中裂解（容器直径不超过 10 cm），或者使用胰蛋白酶处理后离心收集细胞沉淀；

(a) 直接裂解法：彻底吸弃培养液，向培养瓶或培养皿中加入适量的 Buffer RL（用量详见下表）和 10 μ L Proteinase K。

培养皿直径	裂解液 RL
<6 cm	350 μ L
6~10 cm	600 μ L

(b) 胰蛋白酶处理法：彻底吸弃培养液，用 PBS 洗涤细胞，吸除 PBS，加入含有 0.10%~0.25% 胰蛋白酶的 PBS 处理细胞，当细胞脱离容器壁时，加入含有血清的培养基失活胰蛋白酶，将细胞溶液转移至 RNase-Free 的离心管中，300 \times g 离心 5 min，收集细胞沉淀，仔细吸除所有上清，加入适量的 Buffer RL（用量详见下表）和 10 μ L Proteinase K。

细胞量	裂解液 RL
< 5×10^6 个细胞	350 μ L
$\geq 5\times 10^6$ 个细胞	600 μ L

2.3 12,000 rpm (~13,400 \times g) 离心 2~5 min，取上清，按第 3 步进行操作；

注：样品量过多，裂解不充分会导致裂解液粘稠，堵塞 gDNA 过滤柱，如果裂解液非常粘稠可适当增加裂解液用量。

3. gDNA 处理：把 RNase-Free gDNA Remove Column 放在 2 mL 收集管中，把细胞裂解液或组织上清液转移至 gDNA 过滤柱中，12,000 rpm (~13,400 \times g) 离心 30 s，保留滤液；

注：组织裂解液需高速离心去除杂质，细胞碎片会引起柱子的堵塞。处理某些样品时，离心后裂解液表面还可能会有一层脂类层，转移上清液尽量不要吸到这些物质。若 gDNA 过滤柱堵塞，可将滤液吸出加入适量裂解液匀浆后再转移至新的 gDNA 过滤柱中。

4. 丢弃 gDNA 过滤柱，滤液中加入等倍体积 70%乙醇，用移液枪吸打 3~5 次；

5. 把 RNase-Free RNA Column 放在 2 mL 收集管中，将溶液和沉淀一起转移至吸附柱中。12,000 rpm (~13,400 \times g) 离心 30 s，倒掉收集管中的废液，把吸附柱放回收集管中；

6. 如不进行 DNase I 消化，加入 700 μ L Buffer RW 至吸附柱上，12,000 rpm (~13,400 \times g) 离心 30 s，倒掉收集管中的废液，把吸附柱放回收集管中；

7. （可选）若后续实验对 RNA 纯度比较严格，可选择使用 DNase I（需另外订购）进行膜上 DNase 消化；

(a) 向 RNase-Free 吸附柱中加入 350 μ L Buffer RW，12,000 rpm (~13,400 \times g)离心 30 s，弃废液，将吸附柱放回收集管中；

(b) 向吸附柱中央加入 DNase I 工作液，室温放置 15 min；

(c) 向 RNase-Free 吸附柱中加入 350 μ L Buffer RW，12,000 rpm (~13,400 \times g)离心 30 s，弃废液，将吸附柱放回收集管中；

8. 加入 500 μ L Buffer RW1（使用前请先检查是否加入乙醇）至吸附柱中，室温静置 2 min，12,000 rpm (~13,400 \times g) 离心 30 s，倒掉废液，把吸附柱放回收集管中；

9. 重复步骤 8；

10. 12,000 rpm (~13,400 \times g) 离心 2 min，倒掉废液，将吸附柱置于室温放置数分钟，以彻底晾干吸附材料中残留的漂洗液；

注：此步骤目的是将吸附柱中残余的漂洗液去除，漂洗液的残留，可能会影响后续的 RT 等实验。

11. 将吸附柱转移至新的 RNase-Free 离心管中，向吸附膜的中间部位悬空滴加 30~100 μ L RNaseFree ddH₂O，室温静置 2 min，12,000 rpm (~13,400 \times g) 离心 2 min，得到 RNA 溶液，将洗脱的 RNA 溶液置于-80 $^{\circ}$ C保存。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意：在体外研究使用，不用于诊断或治疗用途，本产品不是医疗装置。



注：洗脱缓冲液体积不应少于 30 μL ，体积过小影响回收效率。

注意事项：

1. 使用无 RNase 的塑料制品和枪头避免交叉污染，经常更换新手套。因为皮肤经常带有细菌、汗液及 RNase 等，可能导致 RNA 降解；
2. RNA 在 Buffer RL 中时不会被 RNase 降解。但提取后继续处理过程中应使用不含 RNase 的塑料和玻璃器皿。玻璃器皿可在 150°C 烘烤 4 h，塑料器皿可在 0.5 M NaOH 中浸泡 10 min，然后用水彻底清洗、灭菌；
3. 配制溶液如 70%乙醇应使用 RNase-Free ddH₂O（将水加入干净的玻璃瓶中，加 DEPC 至终浓度为 0.1%(V/V)，混匀放置过夜后高压灭菌）；
4. 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；
5. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期：

室温保存 12 个月，Proteinase K 保存条件 -20°C。

