

总 RNA 柱式提取试剂盒

货号: R40032

Size: 50 Preps

产品介绍

RNAExpress Total RNA Kit是源叶生物研发的新一代快速高效的总RNA提取试剂盒，提高了裂解液的效果和增强了提取的灵敏度。通过对产品的多重优化，最快能在10分钟之内得到纯度更好，质量更高的总RNA，不含有基因组DNA和蛋白质的污染。同时对硅基质膜的改进增强了对RNA的吸附能力，每个吸附柱可处理高达50mg组织，或 5×10^6 细胞。在优化的试剂中加入了RNA保护剂，防止RNA在操作过程中发生降解，即使在室温条件下也可以完成。提取的总RNA可用于Northern Blot, Dot Blot, PolyA筛选, 体外翻译, RNase保护分析和分子克隆。

产品特点

- 操作快速：最快10分钟即可获得高质量的总RNA
- 提取纯度高：不含基因组DNA污染，不需DnaseI酶处理
- 产量高：最大程度地获得样品中的RNA
- 室温条件下完成总RNA提取

产品组成

组成成分	50 Preps
RNAExpress Lysis Buffer ¹	50 ml
漂洗液 RWB ² (RNase-Free)	10ml (另外添加 40ml 无水乙醇)
洗脱液 REB ³ (RNase-Free)	3 ml
离心吸附柱 (NcmSpin Column, Rase-Free) 含收集管	50 个

- RNAExpress Lysis Buffer于4℃避光保存，其他溶剂及吸附柱室温保存。
- 在漂洗液 RWB中加入指定量的无水乙醇（分析纯），在试剂瓶上标注出，使用完毕后要拧紧试剂瓶，防止乙醇挥发。
- 洗脱缓冲液 REB中不含有 EDTA，一般情况不影响下游实验。

操作步骤

准备试剂（自备）：氯仿、无水乙醇等

1. 各种材料样本的匀浆处理

(a) 贴壁培养的细胞：吸去培养基，在培养板中直接加入适量的 RNAExpress Lysis Buffer（每10cm²生长的培养细胞中加入1ml的RNAExpress Lysis Buffer），水平放置片刻，便于裂解液均匀分布细胞表面裂解，再使用移液器吹打细胞并移至收集管中。

注意：（1）收集细胞数量不要超过 5×10^6 /ml RNAExpress Lysis Buffer；

（2）RNAExpress Lysis Buffer加入量根据培养板面积确定，若是RNAExpress Lysis Buffer加入量不足，可能导致提取的RNA中有DNA污染。

(b) 悬浮培养细胞：将悬浮培养的细胞和培养基一起倒入离心管中，离心收集细胞，每 5×10^6 动植物、酵母或细菌细胞加入RNAExpress Lysis Buffer。

注意：（1）部分酵母和细菌细胞可能需要匀浆仪或液氮研磨处理；或者需要使用溶菌酶进行裂解处理。

（2）加入RNAExpress Lysis Buffer前不要洗涤细胞，以免RNA降解。

(c) 动物、植物组织：取新鲜或-70℃冷冻的动植物组织在液氮中充分剪碎研磨，将研磨成粉状的样品转移至离心管中，每20-50mg组织加入1mlRNAExpress Lysis Buffer，匀浆仪进行匀浆处理。

注意：（1）要在液氮等低温下处理样品组织，避免RNA降解；

（2）样品体积一般不要超过RNAExpress Lysis Buffer体积的10%。

2. 样品在加入RNAExpress Lysis Buffer后用移液器反复吹打几次，直至裂解液中无明显沉淀，使样品充分裂解。室温静置5分钟，使得蛋白质核酸复合物完全分离。

注意：可选步骤4-25℃，12,000rpm离心5min，取上清，转入一个新的无RNase的离心管中。（如果样品中含有较多蛋白、脂肪、多糖或肌肉、植物结节部分等，可加此步骤离心去除。离心得到的沉淀中包括细胞外膜、多糖、高分子量DNA，RNA存在于上清溶液）

3. 向上述溶液中加入氯仿，每使用1ml RNAExpress Lysis Buffer加入0.2ml氯仿，剧烈振荡15秒。

4. 12,000rpm,4-25℃离心1分钟，此时样品会分为三层：红色有机相、中间层和上层无色水相。其中RNA主要在水相中，将水相（约500ul）转移至一个新的RNase-Free的离心管中。

5.在得到的无色水相的离心管中，加入等体积的无水乙醇，混匀。将得到溶液转入吸附柱NcmSpinColumn中，4-25℃ 12,000 rpm离心30sec，若一次不能将全部溶液和混合物加入吸附柱NcmSpin Column，请分两次转入吸附柱NcmSpin Column中，4-25℃，12,000rpm离心30sec，弃掉收集管中的废液。

6.向吸附柱NcmSpin Column中加入500 μl漂洗液RWB（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm离心30sec，倒掉收集管中的废液，将吸附柱NcmSpin Column放入收集管中。

7. 重复操作步骤6。

8.将吸附柱NcmSpin Column放入收集管中，12,000rpm离心2min，尽量除去漂洗液。将吸附柱置于室温放置2分钟，彻底晾干

注意：此步骤目的是将吸附柱中残余的漂洗液去除，如果有漂洗液残留，可能会影响后续的RT-PCR等实验操作。

9.加入30-50ul的洗脱液REB或者RNase-Freedd₂HO，室温静置2分钟，4-25℃，12,000rpm离心1分钟。样品保存于-70℃以备长期使用。

保存条件

室温运输，RNAExpress Lysis Buffer于4℃避光保存（单独包装），其他溶剂及吸附柱室温保存，2年有效。

注意事项

1. 预防 RNase污染，如：使用无 RNase的塑料制品和枪头，操作时要戴一次性口罩和手套，实验过程中要勤换手套。
2. 加入氯仿后，一定要充分振荡，保证 RNA提取的效果
3. 使用的样本避免反复冻融，以免影响 RNA的产率和质量。
4. RNAExpress Lysis Buffer含有苯酚，具有毒性和腐蚀性，使用本制品时要穿戴防护物品，避免吸入体内、接触皮肤、吞食等现象发生。如果不慎发生，应立即用大量的水冲洗并前往医院治疗。