

RNAsimple Total RNA Kit

RNAsimple Total RNA Kit

RNAsimple 总RNA提取试剂盒

(离心

目录号 AO3201

产品内容

		(50 preps)
DP 419	去蛋白液RD (Buffer RD)	12 ml
	漂洗液RW (Buffer RW)	12 ml
	无RNA酶双蒸水 (RNase-Free ddH ₂ O)	15 ml
	RNase-Free吸附柱CR3 (含2 ml收集管) (RNase-Free Columns CR3 set)	50 套
	RNase-Free离心管 (1.5 ml) (RNase-Free Centrifuge Tubes (1.5 ml))	50 个

储存条件

裂解液RZ应在2-8℃避光保存，可保存18个月；其他溶液和吸附柱室温(15-30℃)保存，可保存15个月。

RNA纯度更好，质量更高。该试剂盒可从多种细胞或组织中快速提取总RNA，每个吸附柱每次可处理50-100 mg组织或 5×10^8 细胞，可同时处理大量不同样品。一个小时内即可完成反应，提取的总RNA没有DNA和蛋白的污染，可用于Northern Blot、Dot Blot、PolyA 筛选、体外翻译、RNase 保护分析和分子克隆。

注意事项

若提取细菌RNA，推荐应用RNAprep Pure培养细胞/细菌总RNA提取试剂盒（目录号：DP430）

预防RNase污染，应注意以下几方面

1. 经常更换新手套。因为皮肤经常带有细菌，可能导致RNase污染。
2. 使用无RNase的塑料制品和枪头避免交叉污染。
3. RNA在RZ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℃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，再灭菌，即可去除RNase。
4. 配制溶液应使用无RNase的水。（将水加入到干净的玻璃瓶中，加入DEPC至终浓度0.1%(V/V)，放置过夜，高压灭菌。）

- a. 组织：将组织在液氮中磨碎。每50-100 mg组织加1 ml 裂解液RZ，用匀浆仪进行匀浆处理。样品体积不应超过裂解液RZ体积的十分之一。
- b. 单层培养细胞：直接在培养板中加入裂解液RZ裂解细胞，每10 cm²面积加1 ml RZ。用取样器抽打若干次至溶液透明。

注意：裂解液RZ的加入量根据培养瓶面积决定，不是由细胞数决定。如果加量不足，可能导致提取的RNA中有DNA污染。

- c. 细胞悬液：离心取细胞，弃上清。每5-10×10⁶动物细胞和植物细胞加入1 ml 裂解液RZ。加裂解液RZ前不要洗涤细胞，以免降解mRNA。
 - d. 血液：直接取新鲜血液，加入3倍体积RZ（推荐0.25 ml血液+0.75 ml RZ），充分振荡混匀。
2. 将匀浆样品在室温放置5 min，使得核酸蛋白复合物完全分离。
 3. 可选步骤：4℃ 12,000 rpm (~13,400×g) 离心5 min，取上清，转入一个新的无RNase的离心管中。

注意：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存在于上清溶液中。
 4. 加入200 μl氯仿，盖好管盖，剧烈振荡15 sec，室温放置3 min。
 5. 4℃ 12,000 rpm (~13,400×g) 离心10 min，样品会分成三层：黄色的有机相，中间层和无色的水相，RNA主要在水相中，水相的体积约为所用裂解液RZ试剂的50%。把水相转移到新管中，进行下一步操作。

7. 向吸附柱CR3中加入500 μ l去蛋白液RD (使用前请先检查是否已加入乙醇)，4 $^{\circ}$ C 12,000 rpm ($\sim 13,400 \times g$)离心30 sec，弃废液，将CR3放入收集管中。
8. 向吸附柱CR3中加入500 μ l漂洗液RW (请先检查是否已加入乙醇)，室温静置2 min，4 $^{\circ}$ C 12,000 rpm ($\sim 13,400 \times g$)离心30 sec，弃废液。
9. 重复操作步骤8
10. 将吸附柱放入2 ml收集管中，4 $^{\circ}$ C 12,000 rpm ($\sim 13,400 \times g$)离心2 min，去除残余液体。

注意：此步骤目的是将吸附柱中残余的漂洗液去除，离心后将吸附柱CR3在室温放置片刻，或置于超净工作台上通风片刻，以充分晾干。如果有漂洗液残留，可能会影响后续的RT-PCR等实验操作。

11. 将吸附柱CR3转入一个新的1.5 ml离心管中，加30-100 μ l RNase-Free ddH₂O，室温放置2 min，4 $^{\circ}$ C 12,000 rpm ($\sim 13,400 \times g$)离心2 min。

洗脱缓冲液体积不应少于30 μ l，体积过小影响回收效率。且RNA应保存在-70 $^{\circ}$ C，以防降解。

注意：如果想提高RNA得率，可重复上步操作一次，合并两次得到的溶液。

坚持 CUSTOMER FIRST 理念

坚持“CUSTOMER FIRST”理念 秉承“质量为天，服务为根”宗旨！

**TIANGEN为您提供从样本处理，
核酸纯化到下游检测的整体解决方案**

科研试剂

- 样本保护与处理
- 磁珠法外泌体系列
- 基因组 DNA 提取
- 质粒提取
- 总 RNA 提取
- DNA 产物纯化 / 胶回收
- PCR 系列
- NGS 文库制备
- 表观遗传学
- RT-PCR 系列
- 荧光定量 PCR 系列
- 克隆和点突变
- DNA 分子量标准
- 蛋白表达和检测

科研解决方案

- 快速分子克隆整体解决方案
- 基因表达分析快速解决方案