

动物组织总 RNA 提取试剂盒说明书

Animal Tissue Total RNA Extraction Kit

货号：400-103

运输储存条件：Proteinase K 冰袋运输，-20℃保存；其它试剂和离心柱常温运输，室温（15-25℃）保存。Elution buffer 建议首次用前分装成小份室温（15-25℃）保存。

产品简介：

本试剂盒适用于从约20 mg的动物组织样品中快速提取高质量的大于200 nt的总RNA。本试剂盒采用独特的裂解液，能迅速裂解生物样品并失活RNA酶，确保RNA提取的完整性。本试剂盒操作简单快速，性能稳定可靠，不使用苯酚、氯仿等有毒物质，也无需进行耗时的醇沉淀，整个提取过程约40分钟，所提RNA产量大纯度高，适用于RT-PCR、RT-qPCR、Northern、基因表达芯片分析、高通量测序等实验。

产品组成：

产品编号	组分	（100 次）
400-103A	Lysis Buffer	40 ml
400-103B	Buffer CB	40 ml
400-103C	Buffer WB	15 ml
400-103D	Elution buffer	20 ml
400-103E	Proteinase K	2 ml
400-103F	Lysis Buffer 稀释液	40 ml
400-103G	RNA 纯化柱（带收集管）	100 套

动物组织参考用量说明

组织类型	肝脏、胰脏、肠、胃	心、脾、肾、肺、	肌肉	脂肪
参考用量（mg）	10	20-30	20-50	50

样本量对提取效果至关重要，尽可能选择合适的样本量。

准备事项

- 第一次使用前，必须向 Buffer CB 中加入 40 ml 无水乙醇，并充分摇匀。
- 第一次使用前，必须向 Buffer WB 中加入 45 ml 无水乙醇，并充分摇匀。
- 如提取需要用到 Proteinase K 的组织，实验前先开启 55℃水浴锅。

操作步骤

复杂样本裂解、上柱步骤

- 称取约 20 mg 的组织至 1.5 ml 离心管，加入 350 μ l Lysis Buffer，先用剪刀将组织快速剪成小块，然后用电动匀浆机或玻璃匀浆器或组织破碎仪匀浆。注意应该迅速研磨，让组织和裂解液快速充分接触以抑制 RNA 酶活性。
- 向匀浆后的样品中先加入 350 μ l 的 Lysis Buffer 稀释液，然后加入 20 μ l 的 Proteinase K，涡旋混匀。
- 55℃水浴 10 分钟。

4. 14000×g 离心 5 分钟，转移上清液至新的离心管中，尽量不吸到沉淀。
5. 向上清液中加入 0.5 倍体积的无水乙醇，吹吸 10 次充分混匀(如果产生沉淀，这是正常现象，可用移液枪用力吹吸将沉淀分开)。
6. 转移混合液至 RNA 纯化柱（含收集管）中，室温 12000×g 离心 1 分钟，弃废液。如果混合液体积量较大，可分 2 次转移。

简单样本裂解、上柱步骤

1. 称取约 20 mg 的组织至 1.5 ml 离心管，加入 350 μl Lysis Buffer，先用剪刀将组织快速剪成小块，然后用电动匀浆机或玻璃匀浆器或组织破碎仪匀浆。注意应该迅速研磨，让组织和裂解液快速充分接触以抑制 RNA 酶活性。
2. 14000×g 离心 5 分钟，转移上清液至新的离心管中，尽量不吸到沉淀。
3. 向上清液中加入等体积用 Lysis Buffer 稀释液配制的 70%乙醇，吹吸 10 次充分混匀(如果产生沉淀，这是正常现象，可用移液枪用力吹吸将沉淀分开)。
4. 转移混合液至 RNA 纯化柱（含收集管）中，室温 12000×g 离心 1 分钟，弃废液。如果混合液体积量较大，可分 2 次转移。

注：复杂样本：难裂解或 RNA 含量低等难提取的组织样本。未知提取难易程度样本首次优先按**复杂样本**进行裂解、上柱步骤操作。

简单样本：容易裂解且 RNA 含量高的易提取的组织样本。对于加入 Lysis Buffer 后容易磨碎，且提取量高（得率大于 15 μg/20 mg）的组织（如肝、肠、胃），为了简便，再次提取时可按**简单样本**进行裂解、上柱步骤操作。

以下的柱清洗步骤、RNA 洗脱步骤，复杂样本和简单样本操作相同。

柱清洗步骤

1. 加入 350 μl Buffer CB 至 RNA 纯化柱（含收集管），室温 12000×g 离心 1 分钟，弃废液。
2. 加入 350 μl Buffer CB 至 RNA 纯化柱（含收集管），室温 12000×g 离心 1 分钟，弃废液。
3. 加入 500 μl Buffer WB 至 RNA 纯化柱（含收集管），室温 12000×g 离心 1 分钟，弃废液。
4. 室温 12000×g 空柱离心 2 分钟。

RNA 洗脱步骤

5. 于超净台中将 RNA 纯化柱转入干净的无 RNA 酶的 1.5 ml 离心管，最大风扇开盖晾干2分钟。
6. 在 RNA 纯化柱膜中央部位加入 20-30 μl 的 Elution Buffer，室温静置 2 分钟。
7. 室温 12000×g 离心 1 分钟，弃纯化柱，1.5 ml 离心管产物即为 RNA，置于-80℃保存。

注意事项

1. 提取过程在室温进行，按推荐使用合适的样本量，以避免产生不溶物堵塞离心柱。试剂盒开封后，每次使用应严格按照规范操作，谨防 RNase 污染，Elution Buffer 需分装成小份保存。
2. Buffer CB、WB 首次使用前需加入对应体积无水乙醇并充分摇匀。
3. 为充分溶解 RNA，洗脱液的体积最好不低于 20 μl。重复洗脱可提高 RNA 产量。洗脱液需加至 RNA 纯化柱中央的膜上，不可加至侧壁。
4. 为保证提取质量，建议全程使用无 RNA 酶的试剂耗材，尤其是 RNA 洗脱步骤。