***Ver: 2307***

**通用型 RNA 提取试剂盒 (含 DNase I)**

**（BW-R6313）**

**目录**

[产品组成 2](#_Toc141271819)

[保存条件 2](#_Toc141271820)

[产品简介 2](#_Toc141271821)

[实验前准备 3](#_Toc141271822)

[提取操作步骤 3](#_Toc141271823)

[购买须知 5](#_Toc141271824)

# 产品组成

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Catalog#** | **BW-R6313-00** | **BW-R6313-01** | **BW-R6313-02** |
| Preps | 10 | 50 | 250 |
| RNA Column | 10 | 50 | 250 |
| 2mL Collection Tube | 10 | 50 | 250 |
| Buffer RLT | 8 mL | 40 mL | 200 mL |
| Buffer RBC | 6 mL | 30 mL | 200 mL |
| Buffer RW1\* | 6 mL | 30 mL | 150 mL |
| Buffer RW2\*\* | 5 mL | 25 mL | 75 mL |
| Proteinase K buffer | 240 µL | 1.2 mL | 6 mL |
| Buffer DNase | 2mL | 10 mL | 2x10 mL |
| DNase I | 24 µL | 120 µL | 600 µL |
| Buffer RE | 10 mL | 10 mL | 2x10 mL |
| User Manual | 1 | 1 | 1 |

\*Buffer RW1使用前：BW-R6313-00加入6 mL 96- 100% 乙醇；BW-R6313-01加入30 mL 96- 100% 乙醇， BW-R6313-02加入150 mL 96- 100% 乙醇。

\*\*Buffer RW2使用前：BW-R6313-00加入20 mL 96- 100% 乙醇；BW-R6313-01加入100 mL 96- 100% 乙醇， BW-R6313-02加入300 mL96- 100% 乙醇。

# 保存条件

DNase I和Proteinase K buffer Buffer需低温运输，DNase I保存于-20℃，Proteinase K buffer Buffer保存于-20℃-8℃；本产品其他组分可常温运输，室温（15-25℃）干燥条件下保存12个月，长期保存可置于2-8℃。

# 产品简介

本产品适合于从组织、细胞、血浆、血清等样品中抽提高质量总 RNA，操作便捷， 独家裂解液无需加入巯基乙醇，安全环保，30-40 min 内就可完成样品的高质量总RNA提取。 纯化的总 RNA 可直接用于 RT-PCR，荧光定量 RT-PCR，Northern 杂交，第二代测序运用等。

# 实验前准备

❂无水乙醇(96- 100%) ，异丙醇。

❂金属浴或者水浴锅。

❂Buffer RW1 使用前：BW-R6313-00加入6 mL 96- 100%乙醇；BW-R6313-01加入30 mL 96- 100%乙醇，BW-R6313-02加入150 mL 96- 100%乙醇。

❂Buffer RW2 使用前：BW-R6313-00加入20 mL 96- 100%乙醇；BW-R6313-01加入100 mL 96- 100% 乙醇，BW-R6313-02 加入300 mL 96- 100% 乙醇。

❂每次实验前配制DNase I Mix：每份样本按照48 µL Buffer DNase + 2 µL DNase I配制，并置于冰上待用。

❂低温下，Buffer RLT可能会有沉淀形成，需55℃水浴让沉淀完全溶解。

# 提取操作步骤

**A. 组织样本**

1. 匀浆处理：取新鲜组织，每 10-20 mg 加入 **500 µL Buffer RLT、20 µL Proteinase K buffer**， 用机械/玻璃匀浆器进行匀浆，直至无明显组织块即可。

**注意：冰上匀浆，防止局部温度瞬时升高导致 RNA 降解。**

1. 室温下，12000 rpm，离心5 min。
2. 取上清，加入上清**等体积**的**Buffer RBC**和异丙醇，涡旋混匀15 s。进行下一步上柱纯化。

**B. 血浆/血清样本 (200 µL)**

1. 取一个无菌离心管，加入 **20µL Proteinase K buffer**。
2. 加入 200 µL 血清/血浆/尿液样本和 **50 µL Buffer RLT** 至离心管中，涡旋混匀 30s。
3. 加入 **200 µL Buffer RB**C ， 振荡混匀。进行下一步上柱纯化。

**C、培养细胞**

1. 每份样本根据样本数量配制 Lysis Mix：

>2 x 10^5 个细胞：按照 **200 µL Buffer RBC+200 µL** 异丙醇配制 Lysis Mix。

＜2 x 10^5 个细胞：**按照 100 µL Buffer RBC+ 100 µL** 异丙醇配制 Lysis Mix。

1. 细胞准备：

贴壁细胞：无需胰酶消化，吸除细胞培养基上清后可直接在培养皿中立即使用Lysis Mix（>2×105 cells加入400 µL，<2×105 cells加入200 µL）进行消化、裂解。

悬浮细胞：4℃下，1000 × g离心5 min收集细胞，弃上清，加入Lysis Mix（>2×105 cells加入400 µL，<2×105 cells加入200 µL），涡旋震荡直至无明显细胞团即可。

1. 室温静置5 min。
2. 进入过柱纯化步骤。

**上柱纯化过程**

1. 将样本处理裂解完成后进行上柱纯化。把**RNA Column**装在**2mL Collection Tube**中。将上一步所得混合液（包括沉淀）小心转移至吸附柱中，12,000 rpm（13,400 × g）离心60 s， 弃废液，将吸附柱放入收集管中。若混合液超过 750 µL需分次过柱。

**可选步骤：如需DNase I处理，进入可选步骤2；无需DNase I处理，直接进入步骤3；**

1. （可选步骤）DNase I 处理
2. 每个样本按下方表格配制DNase I Mix：

|  |  |
| --- | --- |
| 试剂 | 体积（µL） |
| Buffer DNase | 48 |
| DNase I | 2 |
| DNase I Mix | 50 |

1. 向吸附柱中加入500 µL Buffer RW1\*（使用前先检查是否已加入无水乙醇），12,000rpm（13,400 × g）离心60 s。弃废液，将吸附柱放入收集管中。
2. 向吸附柱中加入50 µL DNase I Mix，室温放置8 min。
3. 向吸附柱中加入500 µL Buffer RW1\*（使用前先检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm（13,400 × g）离心60 s。弃废液，将吸附柱放入收集管中。
4. 向吸附柱中加入50 µL DNase I Mix，室温放置8 min。
5. 向吸附柱中加入500 µL Buffer RW1\*（使用前先检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm（13,400 × g）离心60 s。弃废液，将吸附柱放入收集管中。
6. 向吸附柱中加入500 µL Buffer RW2\*（使用前先检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm（13,400 × g）离心60 s。弃废液，将吸附柱放入收集管中。重复此步骤一次。
7. 将吸附柱放回收集管中。12,000 rpm（13,400 × g）空柱离心2 min。空柱离心后，可开盖放置5 min，使残留的乙醇挥发。

注意：漂洗液中乙醇的残留会影响后续的实验。

1. 将吸附柱置于一个新的RNase-free 1.5 mL离心管中。向吸附柱的膜中央悬空加入40-100 µL Buffer RE（推荐50 µL） 。室温静置2 min，12,000 rpm（13,400 × g）离心1 min洗脱RNA。
2. 丢弃吸附柱，把RNA产物保存于-80--20℃，以防止RNA降解。

# 购买须知

根据说明书使用时，本产品应按其标签和倍沃的文献中所述执行。倍沃不提供任何其他类型的明示或暗示，包括但不限于适销性或适合某一特定目的的保证。在选择倍沃时，违反本保证的，倍沃唯一的义务和买方的唯一补救措施是更换产品，倍沃应当没有任何直接或间接的，或使用引起的附带损害，或无法使用它产品的责任。如需技术支持或了解更多产品信息，请致电与我们联系，或访问我们的网站



**全国服务热线：**400-115-2855

**技术邮箱：**tech@beiwobiomedical.com

**市场邮箱：**[market@beiwobiomedical.com](mailto:sales@biomiga.com.cn)

**倍沃官网：**[www.beiwobiomedical.com](http://www.biomiga.com.cn/)