

产品简介

本试剂盒可从动物组织中快速提取总RNA，可同时处理大量不同样品。提取的总RNA纯度高，没有蛋白和其它杂质的污染，可用于RT-PCR、Real Time RT-PCR、芯片分析、Northern Blot、Dot Blot、PolyA 筛选、体外翻译、RNase 保护分析和分子克隆等多种下游实验。

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在裂解液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，再灭菌，即可去除RNase。
4. 配制溶液应使用RNase-Free ddH₂O。（将水加入到干净的玻璃瓶中，加入DEPC至终浓度0.1%(v/v)，混匀后放置过夜，高压灭菌。）

使用前注意事项

1. 操作前在RL中加入β-巯基乙醇至终浓度1%，如1 ml RL中加入10 μl β-巯基乙醇。此裂解液最好现用现配。配好的RL 4°C可放置一个月，裂解液RL在储存时可能会形成沉淀，如果有沉淀出现，请加热溶解后使用。
2. 第一次使用前应在漂洗液RW中加入无水乙醇，加入量请参见瓶上标签。
3. 以下操作如非指明，均在室温下进行。

DNase I储存液的配制

将DNase I干粉（1500 U）溶解在550 μl RNase-Free ddH₂O中，轻柔混匀，分装后-20°C贮存（可保存9个月）。

注意：从-20°C融化后的DNase I储存液保存于4°C（可保存6周），不要再次冻存。

操作步骤

1. 匀浆处理：

每10-20 mg组织加300 μl裂解液RL **（使用前请先检查是否已加入β-巯基乙醇）**，用研磨杵将组织彻底研磨（如组织较难彻底研磨，可选用电动或玻璃匀浆器）；随后向匀浆液中加入590 μl RNase-Free ddH₂O和10 μl Proteinase K，混匀后56°C处理10-20 min。

注意：组织量一定不要超过20 mg，否则将导致RNA得率和质量下降。

2. 12,000 rpm(~13,400×g)离心2-5 min，取上清进行以下操作。
3. 缓慢加入0.5倍上清体积无水乙醇，混匀（此时可能会出现沉淀），得到的溶液和沉淀一起转入吸附柱CR3中（吸附柱放在收集管中），12,000 rpm(~13,400×g)离心30-60 sec，弃掉收集管中的废液，将吸附柱放回收集管中。
4. 向吸附柱CR3中加入350 μl 去蛋白液RW1，12,000 rpm(~13,400×g)离心30-60 sec，弃废液，将吸附柱放回收集管中。
5. DNase I 工作液的配制：取10 μl DNase I 储存液放入新的RNase-Free离心管中，加入70 μl RDD缓冲液，轻柔混匀。
6. 向吸附柱CR3中央加入80 μl的DNase I 工作液，室温放置15 min。
7. 向吸附柱CR3中加入350 μl 去蛋白液RW1，12,000 rpm(~13,400×g)离心30-60 sec，弃废液，将吸附柱放回收集管中。
8. 向吸附柱CR3中加入500 μl漂洗液RW **（使用前请先检查是否已加入乙醇）**，室温静置2 min，12,000 rpm(~13,400×g)离心30-60 sec，弃废液，将吸附柱CR3放回收集管中。
9. 重复步骤8。
10. 12,000 rpm(~13,400×g)离心2 min，倒掉废液。将吸附柱CR3置于室温放置数分钟，以彻底晾干吸附材料中残余的漂洗液。

注意：此步骤目的是将吸附柱CR3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。



TIANGEN 官方微信，专业服务助力科研：

- 可视化操作指南
- 技术公开课合辑
- 全线产品查询
- 在线专家客服
- 微信直播课堂
- 最新优惠活动



Order: 010-59822688
Toll-free: 800-990-6057 /400-810-6057
TIANGEN BIOTECH (BEIJING) CO., LTD

版本号: DP190813

11. 将吸附柱CR3转入一个新的RNase-Free离心管中，向吸附膜的中间部位悬空滴加30-100 μ l RNase-Free ddH₂O，室温放置2 min，12,000 rpm(~13,400 \times g) 离心2 min，得到RNA溶液。

注意：洗脱缓冲液体积不应少于30 μ l，体积过小影响回收效率。RNA溶液请于-70 $^{\circ}$ C保存。

RNA纯度及浓度检测

完整性： RNA可用普通琼脂糖凝胶电泳 (电泳条件：胶浓度1.2%；0.5 \times TBE电泳缓冲液；150V，15 min)检测完整性。由于细胞中70%-80%的RNA为rRNA，电泳后UV下应能看到非常明显的rRNA条带。28S rRNA的量约为18S rRNA的两倍，说明RNA的完整性较好。

纯度： OD₂₆₀/OD₂₈₀比值是衡量蛋白质污染程度的指标。高质量的RNA，OD₂₆₀/OD₂₈₀读数在1.8-2.1之间，比值为2.0是高质量RNA的标志。OD₂₆₀/OD₂₈₀读数受测定所用溶液的pH值影响。同一个RNA样品，假定在10 mM Tris，pH7.5溶液中测出的OD₂₆₀/OD₂₈₀读数1.8-2.1之间，在水溶液中所测读数则可能在1.5-1.9之间，但这并不表示RNA不纯。

浓度： 取一定量的 RNA 提取物，用RNase-Free ddH₂O稀释n 倍，用RNase-Free ddH₂O将分光光度计调零，取稀释液进行OD₂₆₀，OD₂₈₀测定，按照以下公式进行RNA浓度的计算：

$$\text{终浓度 (ng/}\mu\text{l)} = (\text{OD}_{260}) \times (\text{稀释倍数n}) \times 40$$

RNAPrep Pure Tissue Kit

RNAPrep Pure

动物组织总RNA提取试剂盒

(离心柱型)

目录号：DP431

产品内容

产品组成	DP431 (50 preps)
裂解液RL (Buffer RL)	30 ml
去蛋白液RW1 (Buffer RW1)	40 ml
漂洗液RW (Buffer RW)	12 ml
蛋白酶K (Proteinase K)	500 μ l
研磨杵(Grinding Pestles)	10 个
无RNA酶双蒸水(RNase-Free ddH ₂ O)	40 ml
RNase-Free吸附柱CR3 (含2 ml收集管) (RNase-Free Columns CR3 set)	50 套
RNase-Free DNase I (1500 U)	1 支
RDD缓冲液(DNA消化缓冲液) (Buffer RDD (DNA Digest Buffer))	4 ml
无RNA酶双蒸水(RNase-Free ddH ₂ O)	1 ml
RNase-Free离心管 (1.5 ml) (RNase-Free Centrifuge Tubes (1.5 ml))	50 个

储存条件

RNase-Free DNase I，RDD缓冲液和RNase-Free ddH₂O置于2-8 $^{\circ}$ C保存；加入 β -巯基乙醇的裂解液RL 4 $^{\circ}$ C可放置一个月；其他试剂室温(15-25 $^{\circ}$ C)保存。