

总 RNA 提取-微量

说明书

组分	编号	ZD-TG-74-50
微量离心柱		50 个/包×1
1.5ml 离心管		50 个/包×1
玻璃珠		10g/瓶×1
溶液 TR		60ml/瓶×1
溶液 W1A		9ml/瓶×1
溶液 RW2		6ml/瓶×1
RNase-free 水		5ml/瓶×1
说明书		1 份

产品介绍

产品用于从细胞、组织、血液及粪便中提取 RNA。操作快速简单，获得的总 RNA 纯度高，不含 DNA 和蛋白质污染。

存储和稳定性

- 溶液 TR 于 2~8℃ 避光保存。其余组分室温避光储存。
- 保质期：12 个月。

使用前说明

- 阅读说明书，备好试剂和仪器。
- 自备仪器、耗材及试剂：离心机、合适规格无 RNase 离心管、三氯甲烷、无水乙醇、匀浆器（提取组织 RNA 选用）、红细胞裂解液（选购，

提取白细胞 RNA 使用，货号：H028）。盒中的 1.5ml 离心管专用于收集最后一步中的 RNA 洗脱液。

- 使用并经常更换一次性手套。使用无 RNase 枪头避免污染。
- 首次使用前，分别向溶液 W1A 和 RW2 瓶中按标签要求加入无水乙醇，摇匀后标记备用。
- 注意！溶液 TR 含苯酚，与皮肤接触及吞咽有毒，可导致烧伤。与皮肤接触后，应立即用洗涤剂 and 大量水冲洗。如感到不适，及时就医。

操作步骤

1. 样品处理

注：由于不同部位及生产时期的样本 RNA 含量可相差数倍，实验前查阅资料确定样本使用量。特殊样品（坚硬组织、富含胶原组织和富含 RNase 组织）需预处理：先将组织在液氮中用研钵快速研磨成粉末。取适量粉末移入匀浆器后立即加入溶液 TR 匀浆。勿在加入溶液 TR 前使组织融化。样本为细胞时，加入溶液 TR 前勿洗涤细胞以免降解 mRNA。如为低温保存样本，取出后立即处理，勿使材料融化。溶液 TR 用量大于 700μl 时步骤“7”中需多次过柱。

1.1 植物组织：将组织剪碎（幼嫩组织使用）或液氮研磨成粉。取 20mg 组织移入匀浆器中，加入 200μl 溶液 TR，充分匀浆。将匀浆全部移入离心管中。至步骤“2”。

注：20mg 为参考值，可按需要调整组织用量及溶液 TR 用量，其比例为每 10mg 组织加入 100μl 溶液 TR。

1.2 动物组织及粪便：取 3~5mg 组织移入匀浆器中，加 200μl 溶液 TR，充分匀浆。将匀浆全部移入离心管中，至步骤“2”。

注：3~5mg 为参考值，可按需要调整组织用量及溶液 TR 用量，其比例为每 5mg 组织加入 200 μ l 溶液 TR。

1.3 贴壁细胞：弃去全部培养液。每 1cm²面积加入 100 μ l 溶液TR，用枪头吸打充分混匀。将液体全部移入离心管中，至步骤“2”。

1.4 细胞悬液：离心取细胞。向 1 \times 10⁶个动物、酵母或细菌细胞中加入 200 μ l 溶液TR。漩涡混匀或用枪头吸打至液体不再粘稠(提高得率，重要)。将液体全部移入离心管中，至步骤“2”。

注：酵母和细菌细胞需要使用玻璃珠研磨处理。方法为向液体中加入 100mg 玻璃珠，涡旋剧烈混摇 5~10min。

1.5 血液、血清和血浆及奶液：取 200 μ l 样品（不足时按 200 μ l 计算）于离心管中，加入 600 μ l 溶液TR，剧烈振摇混匀 30sec。至步骤“2”。

1.6 白细胞：取 1ml 血样于合适规格的离心管（离心管容积至少为血样体积的 15 倍）中，加入 10 倍体积的红细胞裂解液，充分混匀，室温放置 5min。1000 \times g 离心 5min。小心弃去全部上清液。向白细胞沉淀中加入约 10 倍体积的溶液TR，用枪头吸打混匀。至步骤“2”。

2. 室温放置 5min，使样品充分裂解。

3. （可选）样品为血液或含较多蛋白、脂肪、多糖和植物筋节时使用：12000rpm（13000 \times g）离心 10min。取上清于新的离心管中。

注：处理富含脂肪组织时，离心后需将液体上漂浮的脂肪层移弃。

4. 加入溶液TR用量 1/5 体积的三氯甲烷（即每使用 200 μ l 溶液TR需加入 40 μ l 三氯甲烷）。剧烈振摇混匀 15sec，室温放置 5min。

5. 4 \square 12000 \times g 离心 15min。将上层水相（白色中间层上的澄清部分，注意不要吸入中间层）移入合适规格的离心管（离心管容积至少为水相体积的 3 倍）中并计算水相体积。

注：离心时温度大于 8 $^{\circ}$ C 时会有部分 DNA 混入水相。

6. 向管中加入水相等体积的无水乙醇，充分混匀。

注：如需提取的总 RNA 中包含小片段 RNA 如 miRNA，需加入水相 1.5 倍体积的无水乙醇。如仅需小片段 RNA 如 miRNA，订购 miRNA 提取盒。

7. 将混匀液（如有沉淀一并移入）移入套有收集管的微量离心柱中，8000 \times g 离心 2min。弃去收集管中废液，将离心柱放回。

注 1：如未能将混匀液一次全部移入，重复上述操作使液体全部过柱。

注 2：本步及后续步骤中离心后如发现微量柱中有液体残留时，需增加转速再次离心使液体全部滤过。

8. 向柱中加入 200 μ l 溶液 W1A，8000 \times g 离心 1min。

9. 再向柱中加入 200 μ l 溶液 W1A，8000 \times g 离心 1min。弃废液，将离心柱放回。

10. 向柱中加入 200 μ l 溶液 RW2，8000 \times g 离心 1min。

11. 再向柱中加入 200 μ l 溶液 RW2，8000 \times g 离心 1min。弃废液，将离心柱放回。

12. 12000 \times g 离心 2min。

13. 将离心柱从收集管中取出，放入新的 1.5ml 离心管中（使用前将离心管柄处按包装袋上示意图做弯折处理）。向柱中央加入 RNase-free 水 5~20 μ l，室温放置 2~3min。12000 \times g 离心 1min。总 RNA 即收集到 1.5ml 离心管中。

注：为提高得率，可向柱中央再加入 5~20 μ l RNase-free 水，室温放置后离心收集 RNA 溶液，注意这会增大溶液体积并降低 RNA 浓度。也可将离心收集的溶液重新加回柱膜中央后室温放置 2min，12000 \times g 离心 1min 收集液体，这可提升 RNA 浓度但在提高得率方面稍逊于前法。

宁波市重鼎生物技术有限公司

主页：www.genepure.com 电话：4008780133