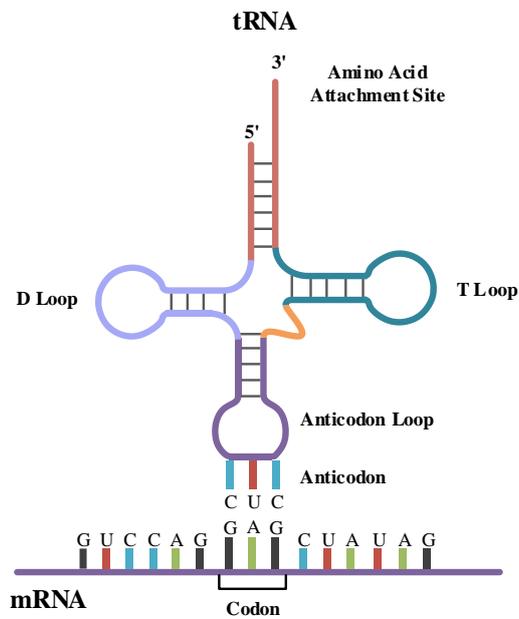




总 RNA 提取试剂盒

Total RNA Extraction Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



总 RNA 提取试剂盒

Total RNA Extraction Kit

一、产品描述

RNA 是存在于生物细胞以及部分病毒、类病毒中的遗传信息载体，主要分为 mRNA、tRNA 和 rRNA，在生物的进化过程中起着重要的作用。高质量的总 RNA 对于基因克隆及功能鉴定、基因的表达和调控分析、分子标记辅助育种等研究具有重要意义。

本产品适用于各种动植物组织、细胞、细菌、酵母和丝状真菌中提取总 RNA，提取的总 RNA 分子完整、纯度高，适用于 Northern Blot、Dot Blot、RT-PCR、Primer Extension、PolyA 筛选、S1 核酸酶作图、RNase 保护测定、体外翻译、构建 cDNA 文库等分子生物学试验。

二、产品内容

试剂	试剂规格	储存条件	有效期
裂解液 RL (Buffer RL)	液体 50 mL×1 瓶	2-8°C	1 年
漂洗液 RW (Buffer RW)	液体 15 mL×1 瓶	RT	1 年
洗柱液 TE (Buffer TE)	液体 50 mL×1 瓶	RT	1 年
RNase free ddH ₂ O	液体 15 mL×1 瓶	RT	1 年
RNase free 吸附柱	50 个	RT	1 年
RNase free 收集管	2 mL×50 个	RT	1 年

需自备试剂：氯仿 (CHCl₃, MW=119.39, CAS: 64-66-3); 无水乙醇 (C₂H₆O, MW = 46.07, CAS: 64-17-5)

三、产品使用说明

1. 预防 RNase 污染应注意以下几方面：

- ①皮肤接触可能导致 RNase 污染，正确佩戴口罩和手套，且注意换新。
- ②使用无 RNase 的塑料制品和枪头避免交叉污染。
- ③RNA 在裂解液中时不会被 RNase 降解，但提取后继续处理过程中应使用不含 RNase 的塑料和玻璃器具，玻璃器具可在 150°C 烘烤 4 h，塑料器具可在 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配置溶液应使用无 RNase 水（将水加入干净玻璃瓶中，加入 DEPC 至终浓度 0.1% (V/V)，放置过夜，高温灭菌）。

2. 吸附柱前处理

吸附柱中加入 **500 μ L 洗柱液 TE**，室温放置 2 min，2-8°C 12000 rpm 离心 2 min，弃废液。

3. 样品处理：

- ①植物组织：取新鲜或-70°C冻存 100 mg 组织在液氮中研磨，粉末加入 **1 mL 裂解液 RL** 中混匀。
- ②动物组织：取新鲜或-70°C冻存 100 mg 组织加 **1 mL 裂解液 RL**，组织研磨杵或匀浆器进行匀浆。
- ③细胞悬液：离心收集细胞，每 10^6 动植物和酵母细胞或每 10^7 细菌细胞加 **1 mL 裂解液 RL** 混匀。
- ④贴壁细胞：培养板中加入裂解液裂解细胞，每 10^6 细胞加 **1 mL 裂解液 RL** (用取样器吹打混匀)。
- ⑤血液处理：取 0.2-1 mL 新鲜血液加 3 倍体积红细胞裂解液，混匀后室温放置 10 min，10000 rpm 离心 1 min。弃上清，若沉淀含有红细胞，可加入 2 倍体积红细胞裂解液重复裂解步骤。离心后沉淀加入 **1 mL 裂解液 RL** 混匀。

4. 将处理后的样品在室温放置 5 min，使得核酸蛋白复合物完全分离。

5. 向匀浆样品中加 **200 μ L 氯仿**，盖好管盖，剧烈振荡 15 s，室温放置 3-5 min，2-8°C 12000 rpm 离心 10 min，取上清。

6. 收集的上清中加入 **200 μ L 无水乙醇** 混匀，加入吸附柱静置 2 min，2-8°C 12000 rpm 离心 2 min，弃废液，将吸附柱放回收集管中。

7. 向吸附柱中加入 **600 μ L 漂洗液 RW** (使用前请先检查是否已加入无水乙醇)，2-8°C 12000 rpm 离心 2 min，弃废液，将吸附柱放回收集管中。

8. 向吸附柱中加入 **600 μ L 漂洗液 RW**，2-8°C 12000 rpm 离心 2 min，弃废液，将吸附柱放回收集管中。

9. 2-8°C 12000 rpm 离心 2 min，弃收集管，将吸附柱置于室温放置数分钟，以彻底晾干吸附材料中的残余漂洗液 RW (漂洗液 RW 残留可能会对后续 RT 等实验造成影响)。

10. 将吸附柱放入新管中，向膜中央滴加 **50-100 μ L RNase free ddH₂O**，室温放置 5 min，12000 rpm 室温离心 2 min 即得到 RNA。(洗涤液体积应不少于 50 μ L，体积过小影响回收效率，RNA 溶液请于-70°C保存)

四、RNA 纯度及浓度检测

完整性：RNA 可用普通琼脂凝胶电泳（电泳条件可参考：胶浓度 1.2%；0.5×TBE 电泳缓冲液；150v，15 min）检测完整性。细胞中 70%-80%RNA 为 rRNA，电泳后应能够看到明显 rRNA 条带。28S rRNA 的量约为 18 rRNA 的两倍，说明 RNA 完整性较好。

纯度：OD₂₆₀/OD₂₈₀ 是衡量蛋白污染程度的指标，高质量 RNA OD₂₆₀/OD₂₈₀ 读数在 1.8-2.1 之间。OD₂₆₀/OD₂₈₀ 读数受测定所用溶液 pH 值得影响。同一 RNA 样品，在 10 mM Tris (pH=7.5) 溶液中测出 OD₂₆₀/OD₂₈₀ 读数 1.8-2.1 之间，在水溶液中读数则可能在 1.5-1.9 之间，但并不代表 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 浓度计算

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

五、注意事项

①所有相关器皿耗材都应应为 RNase-free 产品，操作过程要小心，戴口罩、手套避免环境中 RNA 酶污染样品。

②RNA 在水溶液中 OD 值可能在 1.5-1.9 之间，但这并不表示 RNA 不纯，需电泳检测。

③组织若不经处理，RNA 易被降解，新鲜组织应及时放入液氮中速冻并立即储存于-70°C，冻存的组织不能反复冻融以避免 RNA 的降解，样品也可以在匀浆后加入裂解液，储存于-70°C。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.

Liaodong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

