

TRnaZol RNA Kit (离心柱型)

总 RNA 柱式提取试剂盒

货号: Cat.No: M5102 Size: 100 Preps

产品介绍

TRnaZol RNA Kit 是一种快速高效的总RNA柱式提取试剂盒。通过对产品的多重优化,提高了裂解液的效果和增强了提取的灵敏度,获得纯度更好,质量更高的总RNA。每个吸附柱可处理高达 50mg 组织,或 5×10^6 细胞。在优化的试剂中加入了RNA 保护剂,防止RNA 在操作过程中发生降解,使用RNA Extraction Buffer替代氯仿,纯化的RNA 可用于 Northern Blot, Dot Blot, PolyA 筛选,体外翻译, RNase 保护分析和分子克隆。

产品特点

- 安全性高: 使用RNA Extraction Buffer替代氯仿
- 产量高: 最大程度地获得样品中的 RNA
- 纯度高: DNA和蛋白质污染含量低,适用于各种下游实验
- 操作快速: 简化操作步骤,快速完成RNA纯化

操作步骤

准备试剂(自备): 无水乙醇等

1. 各种材料样本的匀浆处理

(a) **贴壁培养的细胞:** 吸去培养基,在培养板中直接加入适量的 TRnaZol Reagent (每 10cm^2 生长的培养细胞中加入 1ml 的 TRnaZol Reagent), 水平放置片刻,便于裂解液均匀分布细胞表面裂解,再使用移液器吹打细胞并移至收集管中。

注意: (1) 收集细胞数量不要超过 $5 \times 10^6/\text{ml}$ TRnaZol Reagent;

(2) TRnaZol Reagent加入量根据培养板面积确定,若是TRnaZol Reagent 加入量不足, 可能导致提取的 RNA 中有 DNA 污染。

(b) **悬浮培养细胞:** 将悬浮培养的细胞和培养基一起移入离心管中,离心收集细胞,每 5×10^6 动植物、酵母或细菌细胞加入TRnaZol Reagent。

注意: (1) 部分酵母和细菌细胞可能需要匀浆仪或液氮研磨处理;或者需要使用溶菌酶进行裂解处理。

(2) 加入 TRnaZol Reagent 前不要洗涤细胞,以免 RNA 降解。

(c) **动物、植物组织:** 取新鲜或 -70°C 冷冻的动植物组织在液氮中充分剪碎研磨,将研磨成粉状的样品转移至离心管中,每 20-50mg 组织加入 1ml TRnaZol Reagent,匀浆仪进行匀浆处理。

注意: (1) 要在液氮等低温下处理样品组织,避免 RNA 降解;

(2) 样品体积一般不要超过 TRnaZol Reagent 体积的10%。

2. 样品在加入 TRnaZol Reagent 后用移液器反复吹打几次,直至裂解液中无明显沉淀,使样品充分裂解。室温静置 5min,使得蛋白质核酸复合物完全分离

注意: 可选步骤 $4-25^\circ\text{C}$, 12,000rpm 离心 5 min,取上清,转入一个新的 RNase-Free 的离心管中。(如果样品中含有较多蛋白、脂肪、多糖或肌肉、植物结节部分等,可加此步骤离心去除。离心得到的沉淀中包括细胞外膜、多糖、高分子量 DNA, RNA 存在于上清溶液)。

3. 向上述溶液中加入RNA Extraction Buffer,每使用 1ml TRnaZol Reagent加入 0.2ml RNA Extraction Buffer,剧烈振荡 15sec。

4. 12,000g, 4-25℃离心 10 min, 此时样品会分为三层: 红色有机相、中间层和上层无色水相。其中 RNA 主要在水相中, 将水相 (约 500ul) 转移至一个新的 RNase-Free 的离心管中。
5. 在得到的无色水相 的离心管中, 加入等体积的无水乙醇, 混匀。将得到溶液 转入吸附柱NcmSpin Column 中, 4-25℃ 12,000g离心30sec, 若一次不能将全部溶液和混合物加入吸附柱NcmSpin Column, 分两次转入吸附柱 NcmSpin Column 中, 4-25℃, 12,000g 离心 30sec, 弃掉收集管中的废液。
6. 向吸附柱 NcmSpin Column 中加入 500ul 漂洗液 RWB (使用前请先检查是否已加入指定体积无水乙醇), 12,000g 离心 30sec, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱 NcmSpin Column 放入收集管中。
7. 重复操作步骤 6。
8. 将吸附柱NcmSpin Column放入收集管中, 12,000g 离心2min, 尽量除去漂洗液。将吸附柱置于室温放置2min, 彻底晾干
注意: 此步骤目的是将吸附柱中残余的漂洗液去除, 如果有漂洗液残留, 可能会影响后续的 RT-PCR 等实验操作。
9. 加入 30-50ul 的洗脱液 REB Elution Buffer (或者RNase-Free Water), 室温静置 2min, 4-25℃, 12,000g 离心 1min。样品保存于-70℃以备长期使用。

产品组分及保存条件

	成分	货号及规格	保存条件
Part A (M5101)	TRnaZol Reagent	M5101-1, 100ml	2-4℃, 一年
	RNA Extraction Buffer	M5101-2, 20ml	2-25℃, 一年
	REB Elution Buffer	M5101-3, 8ml	2-25℃, 一年
Part B	RWB Wash Buffer (RNase-Free) (加入指定体积的无水乙醇)	M5102-1, 20ml	2-25℃, 一年
	离心吸附柱 (NcmSpin Column, RNase-Free) 含收集管	M5102-2, 100个	2-25℃, 一年

注意事项

1. 预防 RNase污染, 如使用无 RNase 的塑料制品和枪头, 操作时要戴一次性口罩和手套, 实验过程中要勤换手套。
2. 加入RNA Extraction Buffer后, 一定要充分振荡, 保证RNA 提取的效果。
3. 使用的样本避免反复冻融, 以免影响RNA 的产率和质量。
4. TRnaZol Reagent 含有苯酚, 具有毒性和腐蚀性, 使用本制品时要穿戴防护物品, 避免吸入体内、接触皮肤、吞食等现象发生。如果不小心发生, 应立即用大量的水冲洗并前往医院治疗。
5. 在漂洗液 RWB Wash Buffer 中加入指定量的无水乙醇 (分析纯), 在试剂瓶上标注出, 使用完毕后要拧紧试剂瓶, 防止乙醇挥发。

