上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话：021-61312973　传真：021-55068248
网址：www.shyuanye.com
邮箱：shyysw@sina.com

总RNA柱式提取试剂盒

简介：

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 $5X10^6$ 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。

产品特色

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(仅供参考)：

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 $5X10^6$/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 $5X10^6$ 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℃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℃，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(R29480)	TRnaZol Reagent	R29480-A1,100ml	2-8℃,一年
	RNA Extraction Buffer	R29480-A2,20ml	2-8℃,一年
	REB Elution Buffer	R29480-A3,8ml	2-8℃,一年
Part B	RWB Wash Buffer(RNase-Free) **(加入指定体积的无水乙醇)**	R29480-B1,20ml	2-8℃,一年
	离心吸附柱(NcmSpin Column, RNase-Free)含收集管	R29480-B2,100个	2-8℃,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。

有效期： 12个月有效；2-8℃保存。