

Easy-Total RNA Kit

Easy 高纯总 RNA 提取试剂盒

Gecell
Version 10/24

目录号：7030

保存条件

Easy-RNA Extraction Agent 常温运输, 4°C避光保存(室温存放 3 个月无影响), 其它组分(15-30°C)。

产品组分

| 组分 | 规格 |
|---------------------------------------|----------------------|
| Easy-RNA Extraction Agent | 25ml |
| Buffer RW1 | 25 ml |
| Buffer RW2 (concentrate) | 使用前按瓶上标签加入无水乙醇) 13ml |
| RNase-free H ₂ O | 10ml |
| Spin Columns RA with Collection Tubes | 50 套 |

产品介绍

独特的裂解液迅速裂解细胞并灭活细胞 RNA 酶, 同时 Easy-RNA Extraction Agent 具有优异的去除 DNA 污染的能力, 得到的 RNA 无 DNA 污染, 通常不需要 DNA 酶消化就可以直接用于下游实验。

本产品配套了硅胶膜离心柱, 经过多次柱漂洗去除细胞代谢物、蛋白等杂质, 简化了实验操作, 提取的 RNA 纯度高, 质量稳定可靠, 可直接应用于下游 RT-PCR、RT-qPCR、Northern Blot、Dot Blot、高通量测序和体外翻译等多种下游实验。。

实验前准备及重要注意事项

1. 需自备无水乙醇。
2. 第一次使用 Buffer RW2 前应按照试剂瓶标签的说明加入无水乙醇。
3. 提取的样品避免反复冻融, 否则影响 RNA 提取得率和质量。
4. 样本 RNA 在 Easy-RNA Extraction Agent 中不会被 RNase 降解, 如果细胞在加入 Easy-RNA Extraction Agent 裂解后不立即提取, 可存放于-80°C一个月以上。**(注意正确操作是细胞充分裂解之后再冻存)。**

操作步骤（以下所有离心步骤均在室温下进行）

1. 样本处理

- a) 动物/植物组织：将组织在研钵中用液氮充分研磨成粉末，取 25-50 mg 粉末，加入 500 μ l Easy-RNA Extraction Agent，盖好管盖，用力振荡混合均匀。
- b) 单层培养细胞：弃去培养基，向直径 3.5 cm 的培养板/瓶中加入 500 μ l Easy-RNA Extraction Agent（按培养板面积而不是细胞数决定加入量，每 10 cm² 加入 500 μ l），用移液器轻轻反复吸打裂解细胞至溶液透明，吸取匀浆液到一个 1.5 ml 离心管中。
- c) 细胞悬液：离心收集细胞，弃尽上清，每 1-5 x 10⁶ 个细胞加入 500 μ l Easy-RNA Extraction Agent，用移液器反复吸打直至充分裂解。

注意：加入 Easy-RNA Extraction Agent 前不要洗涤细胞，以免降解 mRNA。一些酵母和细菌可能需要匀浆仪或液氮研磨破壁处理。

2. 向匀浆液中加入 2/5 体积的 RNase-free H₂O（每 500 μ l Easy-RNA Extraction Agent 加入 200 μ l RNase-free H₂O），盖好管盖，用力振荡 15 s 混匀，室温孵育 5 min。
3. 室温 12,000 rpm 离心 15 min。此时溶液分成上层水相（含 RNA）和深色的下层沉淀（含蛋白质、DNA、多糖等杂质），小心吸取上层水相至一个新的离心管中。
注意：1) 上层水相体积约占总体积的 90%，如用 500 μ l Easy-RNA Extraction Agent 提取，上层水相约为 640 μ l，建议吸取 500 μ l 进行后续操作；针对微量的样本进行提取时，为减少 RNA 损失，可以全部转移上清。2) 当样本量较小时，离心后可能不会出现下层沉淀，属于正常现象，可继续按后续步骤完成提取。
4. 加入 0.5 倍上清体积的无水乙醇，颠倒混匀（可能会出现沉淀，不影响后续操作），将得到的溶液和可能产生的沉淀一起转入已装入收集管的吸附柱（Spin Columns RA）中，12,000 rpm 离心 30 s，弃废液。
5. 向吸附柱 RA 中加入 500 μ l Buffer RW1，12,000 rpm 离心 30 s，弃废液。
6. 向吸附柱 RA 中加入 600 μ l Buffer RW2（使用前检查是否加入无水乙醇！），12,000 rpm 离心 30 s，弃废液。
7. 重复步骤 6。
8. 将吸附柱放回空收集管内，12,000 rpm 离心 2 min。

注意：这一步的目的是去除吸附柱中残余乙醇，乙醇残留会影响后续的酶促反应（酶切、PCR 等）。

9. 将吸附柱 RA 放入新的 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 H₂O，室温放置 2 min，12,000 rpm 离心 1 min，得到 RNA 溶液，-70 $^{\circ}$ C 保存。
注意：RNase-Free H₂O 体积不应少于 30 μ l，体积过小影响回收效率。
-