

软骨组织 RNA 提取试剂盒

软骨组织 RNA 提取试剂盒

使用说明书

(2017 版)

产品货号：RE641-50T

保存条件：常温保存，保质期 2 年。

产品内容：

产品名称	包装组成
裂解液	50mL
RNA 纯化液	20mL
RNA 结合液	50mL
RNA 洗涤液	50mL
RNA 纯化柱	50 套
RNA 溶解液	10mL
说明书	1 份

软骨组织 RNA 提取试剂盒

产品说明：Coolaber 软骨组织 RNA 提取试剂盒用于从各种软骨组织样品中快速提取总 RNA 的试剂盒，它能有效克服传统 TRIzol 方法提取软骨组织 RNA 时，十分容易产生糖蛋白和酸性多糖污染这一缺点。

操作步骤：（样品裂解，样品纯化，RNA 收集）

离心条件均优先选择 4℃，室温离心也可以。

一：样品裂解

1. 液氮研磨法

将 50-200 mg 新鲜或冷冻的软骨组织液氮研磨成粉，加入 1mL 裂解液重悬后，将裂解物加入 1.5mL 离心管中，震荡混匀 1min。

注意：低温可能导致裂解液有白色悬浮物，请置于 65℃ 水浴充分溶解后使用。裂解液含巯基乙醇，请于通风橱内操作。

二：样品纯化

1. 在裂解物中加入 0.3 mL 的 RNA 纯化液 和 0.2 mL 自备氯仿，在震荡器上震荡 30 s，溶液呈均匀的乳浊状。

2. 12,000rpm 离心 3-5min，取上清到新的 1.5mL 离心管中（避免触及分层界面，下层会有大量 DNA 和蛋白污染，避免污染。）

3. 上清中加入等体积的 RNA 结合液，颠倒混匀，分两次加入同一个 RNA 纯化柱中（如有絮状物或沉淀产生，一并加入纯化柱中）。12,000rpm 离心 1min，弃穿透液。

软骨组织 RNA 提取试剂盒

4. 在纯化柱中加入 0.5mL RNA 洗涤液，室温 12,000rpm 离心半分钟，弃穿透液。重复洗涤一次。（洗涤液使用后拧紧瓶盖，防止挥发）。

三：RNA 收集

1. 将结合有 RNA 的纯化柱 12,000rpm 离心 1min，甩干乙醇。（乙醇的残留将会降低洗脱效果和影响下游实验，或者适当延长离心时间，将有助于乙醇的去除）

2. 弃收集管，将柱芯转移到 1.5mL 的 RNase-free 离心管中（自备），加入 30-50uLRNA 溶解液，室温放置 1 分钟，12,000 rpm 离心 1 分钟洗脱 RNA。得到的 RNA 可直接用于后续实验或者 -80℃ 存放。

3. 如果要提高 RNA 产量，加入 30-50uLRNA 溶解液重复洗脱一次，合并两次穿透液；如果要提高 RNA 浓度，使用第一次的洗脱液 加回到吸附柱中重复洗脱。

注意：建议 RNA 用于下游实验之前，先进行质量检测。经变性琼脂糖凝胶电泳后，会有清晰的 28S 和 18S 条带，以及中间弥散的 mRNA 条带，其中 28S 条带是 18S 条带亮度的 1.5-2 倍。有时还包括跑在最前面的较暗的 5S 条带。如果条带不清晰或者弥散，可能是提取过程中或者材料保存过程中 RNA 发生了降解。小于 200bp 的 RNA 分子不能有效结合到吸附柱上。A260/A280 比值 1.8~2.0 对应 RNA 纯度 90-100% 之间。