

MolPure[®] TRIeasy Plus Total RNA Kit

产品信息

| 产品名称 | 产品货号 | 规格 |
|--|-----------|-------|
| MolPure [®] TRIeasy Plus Total RNA Kit 总 RNA 提取试剂盒 (带离心柱) | 19211ES08 | 5 T |
| MolPure [®] TRIeasy Plus Total RNA Kit 总 RNA 提取试剂盒 (带离心柱) | 19211ES60 | 100 T |

产品描述

MolPure[®] TRIeasy Plus Total RNA Kit 是利用 MolPure[®] RNA Column A1 和改进的异硫氰酸胍/酚一步法 (TRIzol 法) 来提取样品中的总 RNA, 适用于 TRIzol 法所能提取的所有样本, 包括各种动植物、细菌组织和细胞样品。该试剂盒结合了 TRIzol 法试剂稳定性好, 纯度高和离心柱方便快捷的优点, 且不需要异丙醇沉淀和乙醇洗涤过程。试剂盒内的 MolPure[®] RNA Column A1 可选择性吸附核酸, 不吸附蛋白质、多糖和其它非核酸类物质, 提取的总 RNA 纯度高, 可直接用于 Northern、点杂交、mRNA 纯化、体外翻译、RT-PCR、poly(A)+选择、RNA 酶保护分析以及构建 cDNA 文库等多种分子生物学实验。本品操作简单快速, 所有操作可在 1 h 内完成。对少量的组织 (50~100 mg) 和细胞 (5×10⁶) 有较好的裂解效果。

试剂盒组分

| 类别 | 编号 | 试剂盒组分 | 19211ES08 (5 T) | 19211ES60 (100 T) |
|---------|---------|---|-----------------|-------------------|
| Part I | 19211-A | 裂解液 LB (LB Buffer A1) | 5 mL | 100 mL |
| Part II | 19211-B | RNA 吸附柱 A1 (MolPure [®] RNA Column A1) | 5 个 | 100 个 |
| | 19211-C | 2 mL 收集管 (2 mL Collection Tube A1) | 5 个 | 100 个 |
| | 19211-D | 去蛋白液 PL (PL Buffer A1) | 2.5 mL | 50 mL |
| | 19211-E | 漂洗液 W* (Wash Buffer A1*) | 1.2 mL | 25 mL |
| | 19211-F | RNase-free H ₂ O | 1 mL | 10 mL |

运输与保存方法

常温运输。

Part I 组分常温保存, 有效期 3 个月。4°C 避光保存, 有效期 12 个月;

Part II 组分常温保存, 有效期 12 个月。

注意事项

1. 避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、pH 值变化, 各溶液使用后应及时盖紧盖子。
2. 注意观察各溶液是否有析出或浑浊 (尤其冬季等室温为低温环境时), 可 37°C 温浴复溶至溶液澄清, 避免影响使用效果。
3. 裂解液 LB 和去蛋白液 PL 含有刺激性物质, 为了您的安全和健康, 请穿实验服并佩戴一次性手套操作。
4. 样品用裂解液 LB 匀浆后, 如果不加入氯仿进行下游实验, 可先 -70°C 冻存, 可保存一个月以上。
5. 若下游实验对 DNA 非常敏感, 建议用 DNase I (RNase-free) 对 RNA 进行处理。
6. 若提取细菌 RNA, 推荐使用 MolPure[®] Bacterial RNA Kit 细菌 RNA 提取试剂盒 (Cat No. 19301ES)。
7. 本产品仅作科研用途!

实验前准备

1. 自备设备和试剂: 台式离心机、振荡仪、水浴锅或金属浴, 氯仿、无水乙醇, RNase-free 离心管等。
2. 除特殊指明外, 所有的离心步骤均在室温完成, 使用可以达到 12,000 rpm 转速的传统台式离心机。

3. 首次使用前，须在漂洗液 W* (19211-E) 瓶中加入 4 倍体积的无水乙醇，充分混匀后使用，并做好标记。如果发现漂洗液 W* 由于运输或保管不当造成容量严重不准，请用容量筒定容后再加入 4 倍体积的无水乙醇。每次使用后将瓶盖盖紧，以保持漂洗液 W* 中的乙醇含量。

操作方法

一、样本预处理：

1) 样品匀浆

A. 贴壁细胞：弃去培养液，直接往直径 3.5 cm 的培养板中加入 1 mL 裂解液 LB，覆盖并反复吹打裂解细胞。

【注】：1. 依据培养板的面积而不是细胞的数量来决定裂解液 LB 的所需量（每 10 cm² 加 1 mL）。

2. 加入裂解液 LB 量不足时，会导致 DNA 污染。

3. 贴壁细胞往往不能完全从培养瓶（皿）脱落，这并不意味着裂解不完全。此时，细胞膜实际已完全裂开，并释放 RNA，继续后续实验即可。

B. 悬浮细胞：离心收集细胞沉淀，每 5×10⁶~1×10⁷ 个细胞加入 1 mL 裂解液 LB，用移液器反复吹打。

【注】：加入裂解液 LB 前应避免洗涤细胞，否则会增加 mRNA 降解的可能性

C. 动、植物组织：取 50~100 mg 的组织在液氮中充分研磨，加入 1 mL 裂解液 LB 匀浆。

【注】：样品体积不要超过加入裂解液 LB 体积的 10%。

2) 将匀浆样品剧烈震荡后在室温条件下放置 5 min 以使核蛋白体完全解离。

3) （可选）4°C，12000 rpm 离心 10 min，取上清。

【注】：离心可去除样品中较多的蛋白质、脂肪、多糖或肌肉，植物的块茎结节等。离心后的沉淀中包含有细胞外膜、多糖以及高分子量 DNA，上清中含有 RNA。处理脂肪组织样品时，上层是大量油脂，应尽量去除，取澄清的匀浆液进行后续实验。

4) 每 1 mL 裂解液 LB 加入 0.2 mL 氯仿（自备）。盖紧样品管盖，剧烈振荡 15 sec 后室温孵育 3 min。

5) 4°C，12,000 rpm 离心 10 min，样品分成三层：下层有机相，中间层和上层无色水相，RNA 存在于水相中。水相层的容量大约为所加裂解液 LB 体积的 50%，把上层水相小心转移到新管中（不要触碰中间层），并记录水相体积。

6) 加入水相一半体积（也就是 0.5 倍体积）的无水乙醇，混匀（此时可能会出现沉淀）。

二、总 RNA 提取：

1. 将 RNA 吸附柱 A1 套入 2 mL 收集管中，备用。

2. 将上述预处理混合液（及沉淀）加入到 RNA 吸附柱 A1 中，12,000 rpm 离心 1 min，弃过滤液。

【注】：混合液每次最大加入体积 700 μL，可分多次离心。

3. 加入 500 μL 去蛋白液 PL，12,000 rpm 离心 45 sec，弃过滤液。

4. 将 RNA 吸附柱 A1 放回收集管，加入 500 μL 漂洗液 W*，12,000 rpm 室温离心 45 sec，弃过滤液。

【注】：确保漂洗液 W* 已添加无水乙醇。

5. 重复一遍步骤 4。

6. 将 RNA 吸附柱 A1 放回收集管，空柱 12,000 rpm 室温离心 2 min，以除去残留的漂洗液 W*。

7. 将 RNA 吸附柱 A1 放入新的 1.5 mL RNase-free 离心管中，在 RNA 吸附柱 A1 中央加入 30-80 μL RNase-free H₂O，室温放置 2 min。然后 12,000 rpm 离心 1 min。收集滤液，即为 RNA 溶液。

【注】：可通过以下方式提高回收产量：①65°C 预热 RNase-free H₂O；②将 RNA 滤液再次上柱，室温放置 2 min 后，洗脱。

8. RNA 溶液可置于 -80°C 长期保存。