

## 通用型总 RNA 快速提取试剂盒

### Total RNA Extraction Kit

(本试剂盒仅供科研使用)

#### 试剂盒组分

稳定储存 24 个月。

试剂盒成分	数量	储存条件
YFX Mini Column (吸附柱)	50	室温
YFX Collection Tube (2mL) (收集管)	50	室温
Yfxbio® BS (Column Balance Solution)	30mL	室温
Yfxbio®LS (Lysis Solution)	50mL	4°C
Yfxbio® WS (Wash Solution)	50mL	4°C
Yfxbio® WB (Wash Buffer)	50mL	室温
Yfxbio® ES (RNA-Elution Solution)	15mL	4°C

#### 产品简介

翼飞雪总 RNA 快速提取试剂盒采用独特的疏水膜技术, 以及独特配方的 Yfxbio® BS (Column Balance Solution), 彻底去除样品中的蛋白和 DNA 等干扰物, 提取高纯度的完整总 RNA。

使用本试剂盒可以在 15min 左右从动物组织、植物组织、培养细胞、细菌细胞等样本中提取完整的总 RNA。

使用本试剂盒提取普通动植物组织、培养细胞、细菌细胞样品的总 RNA, 样品处理时可以不使用 beta 巯基乙醇。

本总 RNA 快速提取试剂可以从 10mg 脑组织或骨骼肌组织样本中提取约 1.5µg 总 RNA, 从 10mg 肾脏组织或肝脏组织中提取 30-50µg 总 RNA, 从 10<sup>6</sup> 培养细胞中提取 5-15µg 总 RNA, 由于本试剂提取的总 RNA 可以很好的避免 DNA 或者蛋白质的污染, 因此提取产物总 RNA 可以用于 Poly (A+) 筛选、体外翻译、RNA 印迹分析、斑点杂交、cDNA 文库构建、RT-PCR、荧光定量 PCR 等后续分子生物学实验。

#### 注意事项

- 1、仔细阅读本说明书, 每个品牌的产品都有各自特性, 切忌按照使用其他品牌试剂盒的提取经验, 来使用本试剂盒
- 2、自备必需其它试剂耗材: 1.5mL、2mL RNase-Free 灭菌离心管、75%乙醇、beta-巯基乙醇、DEPC、65°C 温浴条件等。
- 3、提前处理实验所需的器皿和仪器: 移液器一般可以使用 RNase-Free H<sub>2</sub>O 配置的 75%乙醇擦洗内、外部; 研钵、研棒、药匙、玻璃器皿等需在 180°C 烘干 4h 以上; 吸头、离心管等塑料器皿用 RNase-Free H<sub>2</sub>O 配置的 0.1% (V/V) DEPC 水浸泡 12h 后, 再高压蒸汽灭菌后使用。(DEPC 具有致癌性, 操作时需戴手套)
- 4、电泳槽等使用 0.2M NaOH 浸泡, 并用纯水漂洗。
- 5、全程佩戴一次性使用手套, 并经常更换。

## 提取步骤

### 柱膜平衡

1、将吸附柱套入收集管中, 加入 500 $\mu$ L Yfxbio® BS, 室温 13000rpm 离心 1min, 弃滤液, 将吸附柱重新套入收集管。

**注: 本步骤有利于提高总 RNA 的产量。平衡后的吸附柱, 可以放置一天, 不影响效果。**

### 样本处理

2、按照 1mL Yfxbio®LS: 10 $\mu$ L beta 巯基乙醇的比例, 混合后混匀。

**注: 普通的动植物组织、培养细胞、细菌等样本, 不加入 beta 巯基乙醇对于总 RNA 的提取效果没有明显影响。**

#### 3、样本处理

3.1 组织液氮研磨: 取 10-50mg 组织放入研钵, 加入少量液氮后迅速研磨, 样本变软后再加入液氮研磨, 重复三次将样本研成粉末, 用药匙迅速将粉末转入 1.5mL 无酶离心管中, 加入 700-1000 $\mu$ L 的 Yfxbio®LS, 充分混匀 2min。

3.2 组织匀浆: 取 10-50mg 组织加入预先放入 700-1000 $\mu$ L Yfxbio®LS 的无酶离心管中, 电动匀浆机充分匀浆 1-2min, 转入一新的 1.5mL 无酶离心管中。

3.3 贴壁培养细胞: 按照 1mL Yfxbio®LS: 10cm<sup>2</sup> 培养细胞的比例, 直接进行消化裂解, 进行后续提取操作。

3.4 悬浮培养细胞: 按照 1mL Yfxbio®LS: 5 $\times$ 10<sup>6</sup> 培养细胞的比例, 直接进行收集裂解, 进行后续提取操作。

3.5 细菌/酵母: 细菌细胞按照 1mL Yfxbio®LS: 5 $\times$ 10<sup>7</sup> 细胞; 酵母细胞按照 1mL Yfxbio®LS: 5 $\times$ 10<sup>6</sup> 细胞的比例, 直接进行收集裂解, 进行后续提取操作。

### RNA 吸附

4、将上述裂解液室温或 4 $^{\circ}$ C 13000rpm 离心 5min。

5、取上清液转移至新的 2mL 无酶离心管中可加入等体积的 70%乙醇, 颠倒混匀。

**注: 70%乙醇必需使用新鲜的 DEPC 水现配现用, 否则会导致 RNA 的降解。**

6、将上述混合液 (包括可能的沉淀) 转移至已用 Yfxbio® BS 处理的吸附柱内, 室温或 4 $^{\circ}$ C 13000rpm 离心 30s, 弃去收集管中的滤液, 将吸附柱重新套入收集管。

**注: 上样的混合液不可超过 700 $\mu$ L, 如混合液体积过大, 可分批上柱。**

### RNA 漂洗

7、加入 700 $\mu$ L Yfxbio® WB, 室温 12000rpm 离心 1min, 弃滤液, 将吸附柱套入收集管。

8、加入 700 $\mu$ L Yfxbio® WS, 室温 13000rpm 离心 1min, 弃滤液, 将吸附柱套入收集管。

9、加入 700 $\mu$ L 70%乙醇, 室温 13000rpm 离心 1min, 弃滤液, 将吸附柱套入收集管。

**注: 70%必需使用新鲜的 DEPC 水现配现用, 否则会导致 RNA 的降解。**

10、4 $^{\circ}$ C 13000rpm 离心 2min, 以甩干柱子基质残余的液体。

**注: 此步骤不可省略, 否则会严重影响提取 RNA 的后续反应。**

### RNA 洗脱

11、将吸附柱套入一新的无酶 1.5mL 离心管, 加入 50 $\mu$ L Yfxbio® ES, 室温放置 2min, 4 $^{\circ}$ C 13000rpm 离心 1min, 洗脱 RNA。

**注: 1) Yfxbio® ES 要加到柱膜的中央部位, 并确保覆盖柱膜全表面。**

**2) Yfxbio® ES 开启后可能将失去 RNase-Free 状态, 可使用自己信赖的 RNase-Free H<sub>2</sub>O 来代替开封后的 Yfxbio® ES。**

12、提取的总 RNA 应保存于 -20 $^{\circ}$ C, 若长时间保存, 应冻存于 -70 $^{\circ}$ C。

**注: 提取的 RNA 尽快进行后续实验。**