



KT Animal TissueTotal RNA Extraction Kit

高效动物组织总 RNA 提取试剂盒（双柱型）

目录号

MG-TQ-05

产品组成

组分	规格（50 次）
裂解液 FRL（Buffer FRL）	30 mL
去蛋白液 FRW（BufferFRW）	40 mL
漂洗液 FRW1（BufferFRW1）	12mL
蛋白酶 K（Proteinase K）	500 μL
无 RNA 酶双蒸水（RNase-FreeddH ₂ O）	15 mL
RNase-Free FlaPure RNA Columns（含 2.0 mL 收集管）	50 套
RNase-Free FlaPure gDNA Remove Columns(含 2.0 mL 收集管)	50 套

保存条件

常温（10~25℃）保存 12 个月，蛋白酶 K-20℃保存。

产品简介

本试剂盒可从≤20mg 动物软组织(肝脏、脾脏、肾脏，脑等) 中快速提取总 RNA。试剂盒基于 硅胶柱纯化技术，提取过程中无需使用 DTT 及β-巯基乙醇，整个提取过程可在 30min 内完成。试剂 盒结合 DNA 过滤技术，可高效地过滤去除基因组 DNA，提取的总 RNA 纯度高，无蛋白和其它杂质 的污染，可用于 RT-PCR、Northern Blot、Poly A 纯化、RNase 保护分析和体外翻译等实验。

产品特点

- ✧ 操作简便：30min 内完成数个样品的总 RNA 提取；
- ✧ 高效去除基因组 DNA：独特的基因组 DNA 过滤柱，无需 DNase 处理；
- ✧ 安全低毒：无需 DTT 及β-巯基乙醇等有毒试剂；
- ✧ RNA 纯度高：提取的 RNA 无杂质残留，适用于对纯度、完整性要求很高的下游实验。

本产品仅供科研使用



适用范围

本品适用于动物软组织等样品的总 RNA 提取。

注意事项

- 1.第一次使用前应在漂洗液 BufferFRW1 中加入 48mL 的无水乙醇;
- 2.使用无 RNase 的塑料制品和枪头避免交叉污染, 经常更换新手套。因为皮肤经常带有细菌、汗液及 RNase 等, 可能导致 RNA 降解;
- 3.RNA 在裂解液 BufferFRL 中时不会被 RNase 降解。但提取后继续处理过程中应使用不含 RNase 的塑料和玻璃器皿。玻璃器皿可在 150°C烘烤 4h, 塑料器皿可在 0.5MNaOH 中浸泡 10min, 然后用水彻底清洗、灭菌;
4. 配制溶液应使用 RNase-FreeddH₂O(将水加入干净的玻璃瓶中,加 DEPC 至终浓度为 0.1%(V/V), 混匀放置过夜后高压灭菌)。

使用方法

1. 每 10~20 mg 组织加 350 μ L Buffer FRL, 用电动匀浆器将组织彻底匀浆, 然后加入 10 μ L Proteinase K, 混匀后室温放置 5min;

注意: 脾脏组织建议使用 5mg, 肌肉类的组织可以增加至 50~100mg。

- 2.12,000 rpm (~13,400 $\times$ g) 离心 2~5 min, 取上清;
- 3.把 RNase-FreeFlaPure gDNA RemoveColumn 放在 2mL 收集管中, 把细胞裂解液或组织上清液转移至 gDNA 过滤柱中, 12,000rpm(~13,400 $\times$ g) 离心 30s, 保留滤液;

注意: 组织裂解液需高速离心去除杂质, 细胞碎片会引起柱子的堵塞。处理某些样品时, 离心后裂解液表面还可能会有一层脂类层, 转移上清液尽量不要吸到这些物质。若 gDNA 过滤柱堵塞, 可将滤液吸出加入适量裂解液匀浆后再转移至新的 gDNA 过滤柱中。

- 4.丢弃 gDNA 过滤柱, 滤液中加入等倍体积 70%乙醇, 用移液枪吸打 3~5 次;
- 5.把 RNase-FreeFlaPure RNAColumn 放在 2mL 收集管中, 将溶液和沉淀一起转移至吸附柱中。12,000 rpm (~13,400 $\times$ g) 离心 30 s, 倒掉收集管中的废液, 把吸附柱放回收集管中;
- 6.如不进行 DNaseI 消化, 加入 700 μ LBufferFRW 至吸附柱上, 12,000rpm(~13,400 $\times$ g) 离心 30s, 倒掉收集管中的废液, 把吸附柱放回收集管中;
7. (可选) 若后续实验对 RNA 纯度比较严格, 可选择使用 DNaseI (需另外订购) 进行膜上 DNase 消化;
 - 1)向 RNase-Free 吸附柱中加入 350 μ LBufferFRW, 12,000rpm(~13,400 $\times$ g)离心 30s, 弃废液, 将吸附柱放回收集管中;
 - 2)向吸附柱中央加入 DNaseI 工作液, 室温放置 15min;
 - 3)向 RNase-Free 吸附柱中加入 350 μ LBufferFRW, 12,000rpm(~13,400 $\times$ g)离心 30s, 弃废液, 将吸附柱放回收集管中;

本产品仅供科研使用



8.加入 500 μ L BufferFRW1 (使用前请先检查是否加入乙醇)至吸附柱中, 室温静置 2min, 12,000 rpm (~13,400 $\times$ g) 离心 30 s, 倒掉废液, 把吸附柱放回收集管中;

9.重复步骤 8;

10.12,000 rpm (~13,400 $\times$ g) 离心 2min, 倒掉废液, 将吸附柱置于室温放置数分钟, 以彻底晾干 吸附材料中残留的漂洗液;

注意: 此步骤目的是将吸附柱中残余的漂洗液去除, 漂洗液的残留, 可能会影响后续的 RT 等实验。

11.将吸附柱转移至新的 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 ddH₂O, 室温静置 2min, 12,000rpm (~13,400 $\times$ g) 离心 2min, 得到 RNA 溶液, 将洗脱的 RNA 溶液置于-80 $^{\circ}$ C保存。

注意: 洗脱缓冲液体积不应少于 30 μ L, 体积过小影响回收效率。

常见问题与解决办法

Q1: 柱子出现堵塞?

A1:

- 1) 样品过量。裂解液粘稠, 减少样品量或加大裂解液用量, 样品量过多反而会降低产量和纯度;
- 2) 裂解液离心不充分。组织裂解液需高速离心去除杂质, 杂质会引起柱子的堵塞, 转移上清液尽量不要吸到杂质;
- 3) 离心温度过低。本产品使用操作均在室温下进行。

Q2: 提取的 RNA 出现降解?

A2:

- 1) 增加离心次数、时间或转数;
- 2) 可将滤液吸出加入适量裂解液匀浆后再转移至新的 gDNA 过滤柱中。