



# 核酸提取或纯化试剂 说明书

## 【产品名称】

核酸提取或纯化试剂

## 【包装规格】

50次/盒；200次/盒

## 【预期用途】

用于核酸的提取、富集、纯化步骤。其处理后的产物用于临床体外检测使用。

## 【检验原理】

本试剂盒是基于TRIzol改进后的柱式总RNA提取试剂盒，裂解液充分裂解并匀质化样本，采用独特的硅基质膜吸附技术，通过离心吸附柱在高盐状态下高效专一的结合溶液中的RNA，同时最大限度的有效除去蛋白质、无机盐离子及有机杂质等；可从动物组织、植物材料、各种微生物及培养细胞等样品中快速提取总RNA，每次可处理30-50 mg组织或 $5 \times 10^6$ 细胞，可同时处理多个不同样品。本试剂盒提取得到的RNA可直接应用于RT-PCR、Northern Blot、Dot Blot、体外翻译等实验。

## 【主要组成成分】

| 试剂名称        | 50次/盒   |    | 200次/盒   |    |
|-------------|---------|----|----------|----|
|             | 规格      | 数量 | 规格       | 数量 |
| 裂解缓冲液       | 60 mL/瓶 | 1瓶 | 110 mL/瓶 | 2瓶 |
| 漂洗缓冲液1      | 40 mL/瓶 | 1瓶 | 160 mL/瓶 | 1瓶 |
| 漂洗缓冲液2（浓缩液） | 11 mL/瓶 | 1瓶 | 50 mL/瓶  | 1瓶 |
| 洗脱缓冲液       | 10 mL/瓶 | 1瓶 | 50 mL/瓶  | 1瓶 |
| 吸附柱         | 50 个/包  | 1包 | 50 个/包   | 4包 |
| 离心管         | 50 个/包  | 1包 | 50 个/包   | 4包 |

## 【保存条件及有效期】

裂解缓冲液2-8℃保存，其余组分0-35℃保存，有效期12个月。

可在0-40℃运输，运输时间建议不超过7天。

## 【样本要求】

1. 适用样本类型：血液、动物组织、植物材料、各种微生物及培养细胞。
2. 样本处理与保存：常温处理保存。
3. 样本运输：常温运输。

## 【检验方法】

### 自备仪器、试剂：

氯仿(新开封或提取RNA专用)、70%乙醇(无RNA酶水配制)、无水乙醇。

## 实验前准备及注意事项

1. 预防RNA酶污染，应注意以下几方面：
  - 1) 使用无RNA酶的塑料制品和枪头，避免交叉污染。
  - 2) 玻璃器皿应在使用前于180℃高温下干烤4小时，塑料器皿可在0.5 M氢氧化钠中浸泡10分钟，用水彻底冲洗后高压灭菌。
  - 3) 配制溶液应使用无RNA酶的水。
  - 4) 操作人员戴一次性口罩和手套，实验过程中要勤换手套。
2. 样品应避免反复冻融，否则影响RNA提取得率和质量。
3. 使用前若发现裂解缓冲液有沉淀，可置于56℃水浴几分钟，即可溶解。
4. 第一次使用前应按照试剂瓶标签说明在漂洗缓冲液2中加入无水乙醇。
5. 所有离心步骤若无特殊说明均在室温下进行，且所有操作步骤动作要迅速。
6. 若下游实验对DNA非常敏感，建议用不含RNA酶的DNA酶I（货号：CW2090S）对RNA进行处理。

## 操作步骤

### 1. 样品处理

1a.植物组织：取新鲜植物组织在液氮中充分研磨或将植物组织剪碎后直接在裂解缓冲液中迅速研磨，每30-50 mg组织加入1 mL裂解缓冲液，混匀。

**注意：样品体积一般不要超过裂解缓冲液体积的10%。**

1b.动物组织：取新鲜或-70°C冻存的动物组织尽量剪碎，每30-50 mg组织加入1 mL裂解缓冲液，匀浆仪进行匀浆处理。或在液氮中研磨后加入裂解缓冲液1 ml混匀。

**注意：样品体积一般不要超过裂解缓冲液体积的10%。**

1c.单层培养细胞：吸去培养液，可直接在培养板中加入适量裂解缓冲液（每10 cm<sup>2</sup>面积需要1 mL裂解缓冲液），用取样器反复吹打使细胞裂解。也可用胰蛋白酶处理后，将细胞溶液转移至无RNA酶的离心管中，300×g离心5 min，收集细胞沉淀，仔细吸除所有上清，加入裂解缓冲液1 mL混匀。

**注意：1) 收集细胞数量不要超过1×10<sup>7</sup>。**

2) 裂解缓冲液加量根据培养板面积决定，不是由细胞数决定。如果裂解缓冲液加量不足，可能导致提取的RNA中有DNA污染。

3) 收集细胞时一定要将细胞培养液去除干净，否则会导致裂解不完全，造成RNA的产量降低。

1d.细胞悬液：离心收集细胞。每5×10<sup>6</sup>-1×10<sup>7</sup>动物、植物和酵母细胞或每10<sup>7</sup>细菌细胞加入1 mL裂解缓冲液。

**注意：1) 加入裂解缓冲液前不要洗涤细胞，以免RNA降解。**

2) 一些酵母和细菌细胞可能需要匀浆仪或液氮研磨处理。

1e.血液处理：直接取新鲜的血液，加入3倍体积的裂解缓冲液（推荐0.25 mL全血加入0.75 mL裂解缓冲液），充分振荡混匀。

1f.可选步骤：对于蛋白、脂肪、多糖或胞外物质含量高的样品，如肌肉组织、脂肪组织或植物的块茎，可以在匀浆处理后4°C，12,000 rpm (~13,400×g) 离心10分钟以除去不溶物质，此时沉淀中含胞外物质、多糖和高分子量的DNA，而RNA存在于上清中。

2. 样品中加入裂解缓冲液后反复吹打几次，使样本充分裂解。室温放置5分钟，使蛋白核酸复合物完全分离。

3. 以每1 mL裂解缓冲液加入200 μL氯仿的比例加入氯仿，盖好管盖，剧烈振荡15秒，室温放置2分钟。

4. 4°C 12,000 rpm (~13,400×g) 离心10分钟，此时样品分为三层：红色有机相，中间层和上层无色水相，RNA主要在上层水相中，将上层水相移到一个新的无RNA酶的离心管（自备）中。

5. 在得到的水相溶液中加入等体积的70%乙醇（无RNA酶水配制），颠倒混匀。

6. 将上步所得溶液全部加入到已装入收集管的吸附柱中。若一次不能加完溶液，可分多次转入。12,000 rpm离心20秒，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。

7. 向吸附柱中加入700  $\mu\text{L}$ 漂洗缓冲液1，12,000 rpm离心20秒，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。
8. 向吸附柱中加入500  $\mu\text{L}$ 漂洗缓冲液2（使用前检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm离心20秒，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。
9. 重复步骤8。
10. 12,000 rpm离心2分钟，倒掉收集管中废液。将吸附柱置于室温数分钟，彻底晾干。  
**注意：这一步目的是将吸附柱中残余乙醇去除，乙醇残留会影响后续酶促反应（酶切、PCR等）。**
11. 将吸附柱置于一个新的无RNA酶的离心管中，向吸附柱的中间部位加入30-50  $\mu\text{L}$ 洗脱缓冲液，室温放置1分钟，12,000 rpm离心1分钟，收集RNA溶液， $-70^{\circ}\text{C}$ 保存RNA，防止降解。  
**注意：1) 洗脱缓冲液体积不应小于30  $\mu\text{L}$ ，体积过小影响回收率。  
2) 如果要提高RNA的产量，可用30-50  $\mu\text{L}$ 新的洗脱缓冲液重复步骤11。  
3) 如果要提高RNA浓度，可将得到的溶液重新加入到吸附柱中，重复步骤11。  
4) 实验过程注意佩戴口罩，手套及实验服，实验中产生的废液应收集，按照医疗企业废液标准处理。**