



Ultrapure RNA Kit (DNase I)

超纯RNA提取试剂盒 (DNase I)

目录号：CW0597S (50 preps)

保存条件： DNase I及10×Reaction Buffer -20℃保存，TRlzon Pal™及TRlzon Reagent 2-8℃避光保存，其它组分室温（15-30℃）。

产品内容

Component	CW0597S 50 preps
DNase I	1000 U
10×Reaction Buffer	1000 μL
TRlzon Reagent	60 mL
TRlzon Pal™	10 mL
Buffer RW1	40 mL
Buffer RW2 (concentrate)	11 mL
RNase-Free Water	10 mL
Spin Columns RM with Collection Tubes	50
RNase-Free Centrifuge Tubes (1.5 mL)	50

产品简介

本试剂盒是基于TRIzol改进后的柱式总RNA提取试剂盒，本制品可以从动物组织、植物材料、各种微生物及培养细胞等样品中提取总RNA。首先裂解液充分裂解并匀质化样本，在特有的高盐状态下，RNA特异性地与硅基质膜结合，在极大程度减少了蛋白污染的同时有效去除了有机溶剂的污染，得到的RNA纯度更好，质量更高。本产品可从各种细胞或组织中快速提取总RNA，每次可处理30-50 mg组织或 5×10^6 细胞，可同时处理多个不同样品。如果是对微量DNA非常敏感的RNA实验，残留的DNA可利用无RNase的DNase在柱上进行消化去除，提取后的RNA可直接应用于RT-PCR、Northern Blot、Dot Blot、体外翻译等实验。

实验前准备及重要注意事项

1. 预防RNase污染，应注意以下几方面：
 - 1) 使用无RNase的塑料制品和枪头，避免交叉污染。
 - 2) 配制溶液应使用无RNase的水。
 - 3) 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TRIzol Reagent有沉淀，可置于56°C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Buffer RW2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。

使用方法

1. 样品处理
 - 1a. 组织：30-50 mg组织在液氮中充分研磨后加入1 mL TRIzol Reagent，或在组织样品中加入1 mL TRIzol Reagent后匀浆处理。

注意：样品体积不超过TRIzol Reagent体积的10%。
 - 1b. 单层培养细胞：吸去培养液，加入适量，每10 cm²加入1 mL TRIzol Reagent。
 - 1c. 细胞悬液：离心收集细胞。每 5×10^6 细胞加入1 mL TRIzol Reagent。
2. 样品中加入TRIzol Reagent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. 每1 mL TRIzol Reagent加入200 μ L TRIzol Pal™，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RNase-Free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RNase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（Spin Columns RM）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350 µL Buffer RW1，12,000 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. 配制DNase I混合液：取52 µL RNase-Free Water，向其中加入8 µL 10×Reaction Buffer和20 µL DNase I（1 U/µL），混匀，配制成终体积为80 µL的反应液。
9. 向吸附柱中直接加入80 µL DNase I 混合液，20-30°C孵育15分钟。
10. 向吸附柱中加入350 µL Buffer RW1，12,000 rpm离心1分钟，弃废液，将吸附柱重新放回收集管中。
11. 向吸附柱中加入500 µL Buffer RW2（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。
12. 重复步骤11。
13. 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：这一步的目的是将吸附柱中残余的乙醇去除，乙醇的残留会影响后续的酶促反应（酶切、PCR等）。
14. 将吸附柱置于一个新的无RNase离心管中，向吸附柱的中间部位加入30-50 µL RNase-Free Water，室温放置1分钟，12,000 rpm离心1分钟，收集RNA溶液，-70°C保存RNA，防止降解。
注意：
 - 1) RNase-Free Water体积不应小于30 µL，体积过小影响回收率。
 - 2) 如果要提高RNA的产量，可用30-50 µL新的RNase-Free Water重复步骤14。
 - 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14。