动物骨组织RNA快速提取试剂盒

产品货号：BA3245

产品规格：50T

产品简介：

骨组织坚硬、骨细胞密度低、而且外周基质含有大量黏蛋白（蛋白多糖）和RNA难以分离，无法用传统Trizol法进行高质量提取。

本试剂盒采用独有的不含苯酚/氯仿配方的裂解液，并添加多种成分去除骨组织蛋白多糖。同时独特基因组DNA清除柱技术可以有效清除gDNA残留，得到的RNA一般不需要DNase消化，可用于反转录PCR、荧光定量PCR等实验。独特的裂解液迅速裂解细胞和灭活细胞RNA酶，离心沉淀去除多糖和次级代谢产物，然后裂解混合物用乙醇调节RNA结合吸附到基因组DNA清除柱，然后RNA被选择性洗脱滤过， 吸附在基因组DNA清除柱上的残留DNA无法洗脱连同柱子一起丢弃从而清除掉DNA。滤过的RNA用乙醇调节结合条件后，RNA在高离序盐状态下选择性吸附于离心柱内硅基质膜，再通过一系列快速的漂洗－离心的步骤，去蛋白液和漂洗液将细胞代谢物，蛋白等杂质去除，最后低盐的RNase free H20将纯净RNA从硅基质膜上洗脱。

产品内容：

产品组成	规格
裂解液CLB	50ml
PLANTaid	5ml
裂解液 RLT Plus	5ml
去蛋白液 RW1	40ml
漂洗液 RW	10ml （第一次使用前按说明加指定量乙醇）
基因组DNA清除柱和收集管	50EA
RNase-free吸附柱RA和收集管	50EA

产品特点:

1. 完全不使用有毒的苯酚，氯仿等试剂，也不需要乙醇沉淀等步骤。
2. 简捷，单个样品操作一般可在35分钟内完成，世界上最简单快速的试剂盒。
3. 独家研发成功基因组DNA清除柱技术可以有效清除gDNA残留，得到的RNA一般不需要DNase消化，可用于反转录PCR、荧光定量PCR。
4. 适应性广泛，可以提取各种骨组织包括矿化骨组织。
5. 多次柱漂洗确保高纯度，OD_{260}/OD_{280}典型的比值达1.9-2.2，基本无DNA残留，可用于RT-PCR，Northern-blot，二代测序和各种实验。

操作步骤(仅供参考)：

第一次使用前请先在漂洗液RW瓶加入指定量无水乙醇。

取1ml裂解液CLB至离心管内(如果CLB有析出或者沉淀需先置 65℃水浴重新溶解），在裂解液CLB中加入100μl PLANTaid，颠倒混匀后65℃水浴中预热。多个样品按照比例放大准备。

一：液氮研磨法

1. 骨钳夹碎骨组织后放入研钵，加入液氮后反复研磨成细粉，注意液氮蒸发后不断补加保存液氮一直存在。

扫一扫 加微信
郑州乐业生物科技有限公司
Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd
地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号
免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799
Q Q：807961520 731791866
邮箱：zzlybio@126.com

2. 转移100mg细粉加至预热的裂解液CLB（已加有PLANTaid）离心管中。立即剧烈涡旋30-60秒或者用吸头吹打混匀裂解直得到满意匀浆结果(或者电动匀浆30秒)，可以剪切DNA，降低粘稠度和提高产量。
3. 立刻接操作步骤的步骤三。

二：其它骨组织破碎方法：

1. 取100mg骨组织加入1ml预热的裂解液CLB（已加有PLANTaid）高速均质仪粉碎匀浆。或者取100mg液氮冷冻包埋切片粉碎的骨头加入裂解液CLB（已加有PLANTaid）粉碎匀浆。
2. 立刻接操作步骤的步骤三。
3. 短时放回65℃水浴中（10min），中间偶尔颠倒1-2次帮助裂解。
4. 将裂解物13,000rpm离心10分钟，沉淀不能裂解的碎片。
5. 取裂解物上清（在不超过基因组DNA清除柱能力的情况下可以取更多的上清，这样可以提高产量）转到一个新离心管。加入上清体积一半的无水乙醇(0.5体积)，此时可能出现沉淀，但是不影响提取过程，立即吹打混匀，不要离心。若上清表面有漂浮物，用吸头挑开吸取下面液体即可。
6. 将混合物(每次小于720μl，多可以分两次加入)加入一个基因组清除柱中，（清除柱放入收集管中）13,000rpm离心2分钟，弃掉废液。确保离心后液体全部滤过去，膜上没有残留，如有必要，可以加大离心力和离心时间。
7. 将基因组DNA清除柱子放在一个干净2ml离心管内（不用RNAsefree或者DEPC处理，一般干净的新离心管即可。也可使用RNA吸附柱配套的新的干净收集管），在基因组清除柱内加500μl裂解液RLTPlus，13,000rpm离心30秒，收集滤液（RNA在滤液中），用微量移液器较精确估计滤过液体积（通常为450-500μl左右，滤过时候损失体积应该减去），加入0.5倍体积的无水乙醇，此时可能出现沉淀，但是不影响提取过程，立即吹打混匀，不要离心。
8. 立刻将混合物(每次小于720μl，多可以分两次加入)加入一个吸附柱RA中，（吸附柱放入收集管中）13,000rpm离心2分钟，弃掉废液。确保离心后液体全部滤过去，膜上没有残留，如有必要，可以加大离心力和离心时间。
9. 加700μl去蛋白液RW1，室温放置1分钟，13,000rpm离心30秒，弃掉废液。
10. 加入500μl漂洗液RW（请先检查是否已加入无水乙醇!），13,000rpm离心30秒，弃掉废液。加入500μl漂洗液RW，重复一遍。
11. 将吸附柱RA放回空收集管中，13,000rpm离心2分钟，尽量除去漂洗液,以免漂洗液中残留乙醇抑制下游反应。
12. 取出吸附柱RA，放入一个RNasefree离心管中，根据预期RNA产量在吸附膜的中间部位加30-50μl RNasefreewater（事先在70-90℃水浴中加热可提高产量），室温放置1分钟，12,000rpm离心1分钟。
13. 如果预期RNA产量>30μg，加30-50μl RNasefreewater重复步骤12，合并两次洗液，或者使用第一次的洗脱液加回到吸附柱重复步骤一遍(如果需要RNA浓度高)。洗脱两遍的RNA洗脱液浓度高，分两次洗脱合并洗脱液的RNA产量比前者高15–30%，但是浓度要低，用户根据需要选择。

注意事项：

1. 本产品不合适的储存于低温（4℃或者-20℃）会造成溶液沉淀，影响使用效果，因此运输和储存均在室温下（15℃-25℃）进行。
2. 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。
3. 所有的离心步骤均可在室温完成（4℃离心也可以），使用转速可以达到13,000rpm的传统台式离心机，如Eppendorf 5415C或者类似离心机。
4. 需要自备乙醇，研钵或者其它合适的破碎骨组织装置。
5. 样品处理量绝对不要超过基因组清除柱DA和和RNA吸附柱RA处理能力，否则造成DNA残留或产量降低。开始摸索实验条件时，如果不清楚样品DNA/RNA含量时可使用较少的样品处理量，将来根据样品

试验情况增加或者减少处理量。

6. 裂解液CLB和RLT Plus和去蛋白液RW1中含有刺激性化合物，操作时戴乳胶手套，避免沾染皮肤，眼睛和衣服。若沾染皮肤、眼睛时，要用大量清水或者生理盐水冲洗。
7. 关于DNA的微量残留：
   一般说来任何总RNA提取试剂在提取过程中无法完全避免DNA的微量残留（DNase消化也无法做到100%无残留），由于采取了本公司独特的缓冲体系和基因组DNA清除柱技术，绝大多数DNA已经被清除，不需要DNase消化，可直接用于反转录PCR和荧光定量PCR。个别特殊情况如DNA含量过于丰富造成残留或者要进行严格的mRNA表达量分析荧光定量PCR，我们建议在进行模板和引物的选择时：
   1) 选用跨内含子的引物，以穿过mRNA中的连接区，这样DNA就不能作为模板参与扩增反应。
   2) 选择基因组DNA和cDNA上扩增的产物大小不一样的引物对。
   3) 将RNA提取物用RNase-free的DNase I处理。
   4) 在步骤去蛋白液RW1漂洗前，直接在吸附柱RA上进行DNase I柱上消化处理。
8. 第一次使用前请先在漂洗液RW瓶加入指定量无水乙醇。
9. 取1ml裂解液CLB至离心管内(如果CLB有析出或者沉淀需先置于65℃水浴重新溶解），在裂解液CLB中加入100μl PLANTaid，颠倒混匀后65℃水浴中预热。多个样品按照比例放大准备。

保存：室温，12个月。

扫一扫 加微信
郑州乐业生物科技有限公司
Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd
地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号
免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799
Q Q：807961520 731791866
邮箱：zzlybio@126.com