



StarPure RNA Kit

StarPure RNA 提取试剂盒

版本号: V231101

货号: P120

保存: 常温, TRIGene 4°C避光保存

运输: 常温, TRIGene 低温运输

货号	规格
P120-05	100 rxn

【产品概述】

本试剂盒是基于 TriZol 改进后的柱式总 RNA 提取试剂盒。其原理是利用异硫氰酸胍/酚/氯仿法, 快速裂解细胞, 溶解细胞内含物, 抑制核酸酶活性, 从而有效防止 RNA 在提取过程中的降解。加入氯仿后, 溶液分为水相和有机相。RNA 保留在上层水相中, 分离后搭配独特的硅胶膜吸附柱, 可增强对 RNA 的吸附能力, 同时可有效去除蛋白质、无机盐离子及有机杂质等物质。得到的总 RNA 通常不含有 siRNA、snRNA、5.8S rRNA、5S rRNA 和 tRNAs 等 200 nt 以下的 RNA。提取的 RNA 纯度高、产量大, 无基因组 DNA 和蛋白质污染。可直接用于 RT-PCR、Northern blot、dot blot、polyA 筛选、体外翻译、RNase 保护实验和分子克隆等一系列操作。

【产品特点】

- 方便自由: 本试剂盒包含 TRIGene 和提取伴侣, 可任意选择使用部分。
- 简便快速: 步骤少, 操作简单, 节省时间。
- 更高纯度: 独特的硅胶膜吸附柱最大限度除去蛋白质等杂质, OD₂₆₀/OD₂₈₀ 一般在 1.9 以上。
- 应用领域广: 提取的 RNA 可直接用于 RT-PCR、Northern blot、dot blot、polyA 筛选、体外翻译、RNase 保护实验和分子克隆等下游各种实验。

【产品组分】

组分货号	组分名称	P120-05	备注
ZP120-101	TRIGene	100 ml	4°C 避光
ZP1001	Buffer RW1	40 ml×2	
ZP1002	Buffer RW2	12 ml×2	初次使用前每瓶请加入 48 ml 无水乙醇
ZP1000	Buffer TB	10 ml×2	
ZP1003	Spin Columns with Collection Tubes-RC	50 套×2	
ZP1008	1.5ml Centrifuge Tubes (DNase/RNase-free)	50 个×2	

【保存条件】

本试剂盒常温保存, 有效期 12 个月。其中 TRIGene 4°C避光保存。

【注意事项】

- 实验前应准备的材料: RNA 实验专用的氯仿、异丙醇、75%乙醇、Nuclease-free Water (DEPC-treated) 或 TE 缓冲液, 无水乙醇, 涡旋振荡器, 台式离心机, 灭菌的 1.5 ml 离心管等。
- TRIGene Reagent 中含有苯酚等有害物质, 应在通风橱内操作并使用个人防护用品如实验服、手套、防护眼镜或面具等, 防止皮肤接触和吸入。
- 预防 RNase 污染:
 - 采用无菌操作规程; 经常更换新手套, 防止样品由于皮肤携带的细菌、真菌而导致的 RNase 污染。
 - 使用经 Nuclease-free Water (DEPC-treated) 处理过的塑料容器和枪头, 避免交叉污染。
 - RNA 在 TRIGene 中不会被 RNase 降解。但后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 4 h, 塑料器皿可在 0.5 M NaOH 中浸泡 10 min, 然后用水彻底清洗后灭菌烘干使用。



- 4) 配制溶液应使用无 RNase 的水（制备方法：在去离子水中加入终浓度为 0.05% (v/v) 的 DEPC，充分混合，室温或 37°C 放置过夜，高温高压灭菌）。
- 5) 匀浆后加氯仿前，样品可在 -80°C 放置一个月以上；溶解在 75% 乙醇中的 RNA 可在 4°C 保存一周或 -20°C 保存一年。
- 6) 初次使用前应在 Buffer RW2 中加入 48 ml 无水乙醇，并做好标记。

【操作步骤】

1. 样本处理

- 1) 组织样本：每 50-100 mg 组织加 1 ml TRIgene，样品体积不应超过 TRIgene 体积的 10%。
 - A. 植物组织：将植物组织切成小块，在液氮中磨碎，将研磨好的组织粉末快速转入装有 1 ml TRIgene 的 2 ml 离心管中，或将切成小块的植物组织加入 TRIgene 后用匀浆仪进行匀浆处理。在涡旋振荡器上迅速振荡混匀，置于冰上，待所有的样品研磨完。
 - B. 动物组织：将动物组织切成小块，在液氮中磨碎，将研磨好的组织粉末快速转入装有 1 ml TRIgene 的 2 ml 离心管中，或将切成小块的动物组织加入 TRIgene 后用匀浆仪进行匀浆处理。在涡旋振荡器上迅速振荡混匀，置于冰上，待所有的样品研磨完。

可选步骤：裂解产物应呈澄清的透明粘稠液体。对于富含蛋白、脂肪或多糖物质的样品如肌肉、脂肪组织和植物结节部位等，匀浆后仍会存留有不溶物质，可于 4°C 12,000 x g 离心 10 min，吸取上清至一新的离心管中进行后续操作。

- 2) 细胞样本：

- C. 贴壁细胞：吸尽细胞培养液，每 10 cm² 培养面积（6 孔板单孔或 35 mm 平皿）加入 1 ml TRIgene，用加样器吹打数次，以确保细胞完全裂解，然后转移至离心管中。

注：TRIgene 的使用量应由培养皿表面积决定，而非由细胞数目决定。TRIgene 量不足可能导致提取的 RNA 中有 DNA 污染。

- D. 悬浮细胞：离心收集细胞，吸尽液体，每 5-10×10⁶ 动植物或酵母细胞，或每 1×10⁷ 细菌细胞加入 1 ml TRIgene，用加样器吹打，使其完全裂解，然后转移至离心管中。

注：添加 TRIgene 前切勿洗涤细胞，以免 RNA 降解。必要时可以用匀浆器来裂解某些细菌或者酵母细胞。

2. 液相分离

- 1) 裂解产物于室温放置 5 min，使核酸-蛋白复合物完全分离。（注：此时样品可在 -80°C 长期保存）
- 2) 每 1 ml TRIgene 加入 0.2 ml 氯仿，盖紧管盖，剧烈振荡 15 s，室温放置 2-3 min。
- 3) 12,000 rpm 离心 15 min，样品会分成三层：桔黄色的下层有机相，中间层和无色的上层水相。
- 4) 吸取含总 RNA 的上层水相至新的离心管中，吸取水相的体积为所用 TRIgene 试剂的 50%-60%。

3. RNA 纯化及回收

- 1) 在得到的水溶液中加入 0.5 倍体积无水乙醇，上下颠倒数次混匀（此时出现沉淀），将得到的溶液和沉淀一起转入 Spin Columns with Collection Tubes-RC（吸附柱放在收集管中），12,000 rpm 离心 30 s，弃除收集管中的废液，将吸附柱放回收集管中。
- 2) 向吸附柱加入 500 μl Buffer RW1，12,000 rpm 离心 30 s，弃除收集管中废液，将吸附柱放回收集管中。
- 3) 向吸附柱加入 500 μl Buffer RW2（使用前检查是否加入无水乙醇），12,000 rpm 离心 30 s，弃除收集管中废液，将吸附柱放回收集管中。
- 4) 重复操作步骤 3) 一次。
- 5) 将吸附柱放回收集管中，12,000 rpm 离心 2 min。
注：此步骤十分重要，否则 Buffer RW2 中残留的乙醇会影响后续实验。
- 6) 将吸附柱放入一个新的 1.5 ml 离心管（DNase/RNase-free），加入 50-100 μl Buffer TB，室温放置 1-2 min，12,000 rpm 离心 1 min，得到 RNA 溶液。所得的 RNA 应立即使用或适量分装后 -80°C 保存，避免反复冻融。

【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。在所有情况下，本公司对此产品所承担的责任，仅限于此产品的价值本身。