

伯优®动物组织总RNA(含miRNA)提取试剂盒(离心柱法) 使用说明书

产品货号:72406-50

Ver 25.04

【产品介绍】

本产品适用于从动物组织、培养细胞等样本中分离纯化包含miRNA的总RNA,具有简单快捷、核酸纯度高等优点,得到的RNA可直接用于定量PCR及二代测序等常规实验。

【产品组分】

72406-50 (50 rxns)	产品组分	组分货号	规格	数量
72406-50	BioU-Zol裂解液	NR-23-010	50 mL	1
	洗液H2	NR-23-009	20 mL	1
	无酶水	NR-23-005	6 mL	1
	离心柱	NR-23-008	50 个	1

【储存条件】

试剂盒开封前, 2~8°C保存。

试剂盒开封后, 各组分储存条件如下:

组分	储存条件
BioU-Zol裂解液	2~8°C, 避光保存
洗液H2	室温保存
无酶水	室温保存
离心柱	室温保存

【有效期】

12个月

【注意事项】

洗液H2: 第一次使用前请按照试剂瓶标签的说明在洗液中加入无水乙醇并做好标记。

【实验前准备】

试剂: 氯仿、无水乙醇

仪器: 组织研磨工具(如研钵、电动匀浆仪等)、低温离心机、普通离心机

耗材: 1.5 mL离心管、2 mL离心管

【实验流程】

1. 确认洗液H2中已加入80 mL无水乙醇。

2. 预冷的氯仿。



3.低温离心机预冷至4℃。

【实验流程】

● 样本处理

A.动物组织(研钵研磨)

- 1.研钵中加入适量液氮,取5~25 mg组织充分研磨。
- 2.加入1 mL BioU-Zol裂解液,使用移液器充分吹打混匀后,将裂解液转移至2 mL离心管中,室温静置15分钟。

B.动物组织(电动匀浆仪研磨)

- 1.在2 mL离心管中加入1 mL BioU-Zol裂解液。
- 2.取5~25 mg组织加入裂解液中,使用电动匀浆仪研磨组织直至无明显组织块,室温静置15分钟。

C.贴壁细胞

- 1.弃培养皿中的培养基,使用1×PBS清洗细胞,弃PBS。
- 2.培养皿中加入1 mL BioU-Zol裂解液,使用移液器吹打使细胞脱落,将裂解液转移至2 mL离心管中,室温静置15分钟。

*亦可使用胰酶消化收集细胞,按悬浮细胞的方法处理样本。

D.悬浮细胞

- 1.收集细胞至离心管,离心后弃培养基。
- 2.使用1×PBS清洗细胞,并转移细胞至2 mL离心管中,弃PBS。
- 3.加入1 mL BioU-Zol裂解液,使用移液器充分吹打混匀,室温静置15分钟。

*如果样本裂解后无法在短时间内提取总RNA,可将含有样本的裂解液暂存于4℃冰箱中避光保存,暂存时间不超过6小时。

● miRNA提取

- 1.加入200 μL预冷的氯仿,振荡混匀。将离心管放入低温离心机中,4℃ 16,000 × g离心15 min。
- 2.小心吸取400 μL上层水相至新的1.5 mL离心管中,注意不要吸到蛋白层和有机层。
- 3.加入420 μL 无水乙醇,振荡混匀。
- 4.将上述混合液加入离心柱中,10,000 × g离心1分钟。弃滤液。
- 5.离心柱中加入500 μL 洗液H2, 10,000 × g离心1分钟。弃滤液。
- 6.重复步骤5。
- 7.最高速离心空柱3分钟。
- 8.将吸附柱转移至新的1.5 mL离心管中,加入50~100 μL 无酶水,室温静置2分钟。
- 9.最高速离心1分钟,弃离心柱。
- 10.提取的miRNA可直接用于下游实验,或于-20℃保存一周。如需长期保存,需存放于-80℃冰箱。

