

【不同起始材料试剂用量及预期 RNA 产率】

生物材料	起始量	溶液 I	溶液 II	预期产量
动物组织	0.5-5 mg	150 µl	50 µl	0.5-30 µg
	5-10 mg	300 µl	100 µl	2-60 µg
	10-20 mg	600 µl	200 µl	4-120 µg
	25 mg	750 µl	250 µl	12-250 µg
	30 mg	900 µl	300 µl	14-300 µg
	50 mg	1.5 ml	500 µl	25-500 µg
	50-100 mg	3 ml	1 ml	25-1000 µg
	100-200 mg	6 ml	2 ml	50-2000 µg
	150 mg	4.5 ml	1.5 ml	75-1500 µg
	250 mg	7.5 ml	2.5 ml	125-2500 µg
植物组织	1-5 mg	150 µl	50 µl	1-5 µg
	5-10 mg	300 µl	100 µl	5-20 µg
	10-25 mg	750 µl	250 µl	20-50 µg
	50-100 mg	3 ml	1 ml	50-200 µg
	200 mg	6 ml	2 ml	200-400 µg
果蝇	1 只 (0.5-2 mg)	100 µl	33 µl	0.5-3.5 µg
	5-10 只	300 µl	100 µl	11-17 µg
	20 只 (10-40 mg)	750 µl	250 µl	30-44 µg
	40-80 只	2.4 ml	800 µl	88-135 µg
	100 只	3 ml	1 ml	50-350 µg
培养细胞	$2-5 \times 10^5$	150 µl	50 µl	1-5 µg
	$1-2 \times 10^6$	300 µl	100 µl	5-20 µg
	$3-5 \times 10^6$	600 µl	200 µl	15-50 µg
	$6-9 \times 10^6$	750 µl	250 µl	30-90 µg
	1×10^7	1.5 ml	500 µl	50-100 µg
	3×10^7	4.5 ml	1.5 ml	150-300 µg

MyLab®通用型RNA快速提取试剂盒

(适用于动物组织、植物组织、培养细胞、昆虫、分离的白细胞等)

使用说明书



北京美莱博医学科技有限公司

【规格】 50/100T。

【用途与特点】

1. 本试剂盒可用于几乎所有新鲜或液氮保存的动物和植物组织、培养细胞、昆虫、分离的白细胞等 RNA 的快速提取。通用性好，对所有组织均使用相同的操作程序。提取物可直接用于 RT-PCR 扩增、核酸杂交等。
2. 无须 DNA 酶、RNA 酶抑制剂等，也无须酚、氯仿等有害化学试剂。安全无毒；
3. 所需样品量少，并且可根据起始材料的多少自行调整（参见 P4 表）。
4. 操作简便，整个过程<40min。无须低温离心。
5. 提取的 RNA 纯度高，下游实验一般不需要其它处理。

【组成及保存条件】

编号	组份名称	规格	数量	保存
1	溶液 I	37.5ml/75ml	1	常温保存，长期 4℃
2	溶液 II	12.5ml/25ml	1	常温保存，长期 4℃

【有效期】 大于 12 个月。

【自备试剂】 异丙醇；无RNase的 75%乙醇；DEPC处理H₂O

【注意事项】

1. 严防操作环境、使用的容器耗材和试剂的 RNase 污染。所用器具与耗材进行无 RNase 处理。操作过程中勤换手套。
2. 根据起始材料量的不同使用不同体积的溶液（参见 P4 表，红色为一次操作的推荐使用量）。**过多或过少都有可能影响 RNA 的质量或产率**。若起始材料量很少，RNA 预计产量很低，在异丙醇沉淀时，可加入 20mg/ml 肝糖原溶液 0.5~1μl 协助 RNA 沉淀。
3. 将 RNA 溶于 TE 缓冲液中(pH7.5-8.2 之间)检测其在 OD260 的光吸收，不要将 RNA 稀释在蒸馏水或 DEPC 水中检测 OD260。
4. 提取的 RNA 一般不含有 DNA 污染，在极少数情况下（与组织 pH 值等相关）如果有 DNA 污染而又必须去除，则可以用 RNase-free 的 DNase 处理样品。
5. 本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床治疗、食品等用途。

【操作步骤】

1. 准备工作

- 👉 溶液 I 在放置后可有沉淀，使用前须在 65℃ 水浴中加热使沉淀彻底溶解。

2. RNA 提取

1) 材料准备：

- 👉 动物/植物组织、昆虫：称取 25mg 液氮冷冻或新鲜组织，放入用液氮冰冻过的研钵里，立即研磨至粉状。向其中加入 750μl 溶液 I，继续研磨，直到形成均一相液体。移入无 RNase 的 1.5ml 离心管。
- 👉 培养细胞：无RNase的 1.5ml离心管中，加入含平衡盐溶液或细胞培养基的 6-9×10⁶个细胞。14000rpm离心 10sec，去上清。残留 10~20μl液体。剧烈振荡直至细胞完全重悬。加入 750μl溶液 I，用枪头反复吹打 3 次，勿剧烈；
- 👉 白细胞：1ml 全血，用红细胞裂解液（另售）裂解红细胞后，14000rpm 离心 10sec，去上清。残留 10~20μl 液体。剧烈振荡直至细胞完全重悬。向其中加入 750μl 溶液 I，用枪头反复吹打 3 次。

- 2) 向其中加入 250μl 溶液 II（相当于 1/3 体积溶液 I），盖上管盖。

- 3) 上下**轻柔**颠倒混匀 10 次，冰水浴 5min。

- 4) 室温 14000rpm 离心 3~5min（起始材料越多，离心的时间应稍长）。蛋白质和 DNA 等杂质被沉淀下来。小心移取上清液约 600~650μl（注意不要吸到上面的泡沫和下面的沉淀）入另一无 RNase 的 1.5ml 离心管中。

- 5) 向离心管中加入 750μl 异丙醇（相当于 1/1 体积溶液 I），上下轻柔颠倒 50 次，14000 rpm 离心 3~5min，去上清，注意不要触到沉淀。

- 6) 加入 750μl 的 75%乙醇，振荡 30 秒。室温 14000rpm 离心 1min，去上清。

- 7) 在超净台晾至约 15 分钟（勿完全干燥，否则很难溶）。加入 40~100μl 的无 RNase 的水。振荡 30sec，稍离心。

- 8) 将提取的 RNA 立即进行下游实验，或放-70℃保存。