

组织总 RNA 提取试剂盒

E.Z.N.A.[®] Tissue RNA Kit

货号	R6688-00	R6688-01	R6688-02
反应次数	5 次	50 次	200 次
HiBind [®] RNA Mini Columns	5 个	50 个	200 个
2 mL Collection Tubes	15 个	150 个	600 个
TRK Lysis Buffer	5 mL	20 mL	80 mL
RNA Wash Buffer I	5 mL	45 mL	180 mL
RNA Wash Buffer II	2 mL	12 mL	50 mL
OB Protease	55 μ L	550 μ L	2 x 1.1 mL
Nuclease-free Water	5 mL	10 mL	40 mL
User Manual	✓	✓	✓

★ 保存方式及稳定性

1. 按条件保存的试剂盒保质期为 24 个月（见盒外失效日期），所有组分均可常温运输；
2. OB Protease 常温可保存一年，长期保存放置-20°C；
3. 当贮存温度较低时，TRK Lysis Buffer 易析出沉淀，请在使用前把整瓶试剂置于 37°C 中至沉淀完全溶解，充分混匀后再使用。
4. 本试剂盒仅限科学研究使用。

★ 实验前准备

1. 按照下表提示，使用【无水乙醇】对 RNA Wash Buffer II 进行稀释，稀释后室温保存；

货号	无水乙醇 加入量
R6688-00	8 mL
R6688-01	48 mL
R6688-02	200 mL

2. (可选) 每毫升 TRK Lysis Buffer 需加入 20 μ L 2-巯基乙醇, 该混合液可室温贮存两周。

★ 均质化技术

有效地匀浆均一化组织对于成功提取总 RNA 至关重要。裂解样品细胞壁和原生质体是把 RNA 从样品中释放必要的一步, 而均质化是为了降低裂解物的粘度。均质化把细胞成分进行剪切, 形成均质裂解液。不完全均质化会使 HiBind[®] RNA Mini Column 堵柱, 从而导致产量低或无产量。

A. 液氮研磨

1. 使用液氮时, 佩戴合适的手套, 小心操作。
2. 切下组织并加入少量液氮迅速冷冻。
3. 用陶瓷研钵加入大约 10 mL 的液氮中研磨组织样品;
4. 将研磨好的样品转移至 15 mL 离心管中;
注意: 离心管需要提前遇冷, 否则研磨后的样品会在管内剧烈沸腾冒出管外, 可能会导致产量损失。
5. 让液氮完全蒸发后, 加入 TRK Lysis Buffer, 继续下面的均质化操作。

样品均质化——选择以下其中一种方法

1. 使用注射器及针头: 把裂解物在窄针头 (19-21 规格) 内反复吸打 5-10 次让细胞组织尽量分散; 然后按照不同提取方案步骤 1 进行操作。
2. 使用 Homogenizer Mini Column (HCR001, HCR003) 以及 2mL 收集管: 将 Homogenizer Mini Column 套入 2mL 离心管中, 再将裂解液转移至 Column 中, 室温 14,000xg 离心 2min 去除不溶解的杂质, 收集滤液。然后按照不同提取方案步骤 1 进行操作。

B. 角转子均质仪: 样品裂解和均质化

使用角转子均质仪对样品进行裂解和均质化, 可以处理大多数的样品。这个过

程通常需要时间少于 1min，具体根据不同的样品类型决定。许多均质仪使用不同大小的马达和研磨探头，可以在小离心管内进行。

C. 珠磨仪：样品裂解和均质化

组织样品可以通过存在研磨珠和裂解缓冲液快速震荡混匀有效地裂解和均质。当组织样本与细胞碰撞时，组织样本被裂解，同时通过剪切和粉碎的作用完成均质的过程。

★ 用户自备仪器及耗材：

- ✓ 离心转速可达 14,000xg 的小型离心机
- ✓ 涡旋仪
- ✓ 无酶吸头、1.5mL 离心管及 2mL 离心管
- ✓ 无水乙醇、无酶水
- ✓ 温度可达 55°C 的温浴装置
- ✓ 匀浆工具（如针管针头、研钵、研磨珠、珠磨仪、均质仪等）
- ✓ （可选）14.3 M 2-巯基乙醇、真空抽滤装置、DNase I 消化套装

★ 提取步骤

1. 称取 10-30mg 组织样品，切勿超量加入样品，按照第 2-3 页的组织匀浆的其中一种方法进行匀浆，然后转移裂解混合液到 1.5mL 或 2mL 离心管中；
2. 加入 300 μ L TRK Lysis Buffer 至研磨后的样品中，涡旋混匀；
注意：使用前 1mL TRK Lysis Buffer 需要加 20 μ L 2-巯基乙醇。角转子均质仪或珠磨仪可能产生更高的 RNA 产量，但注意过长的研磨时间可能会造成 RNA 的断裂。
3. 往裂解液混合液中加入 300 μ L 无酶水和 10 μ L OB Protease，涡旋混匀，55°C 消化 10min。
4. 室温 14,000xg 离心 3min，转移上清液至一新的 1.5mL 离心管中。
注意：切莫转移到沉淀，如果离心后上层存在白色的薄膜层，用枪头轻轻挑开，伸进上清液面缓慢吸取上清液。

5. 加入 0.5 倍上清体积的无水乙醇到上清液中，吸打混匀；
注意：加入乙醇后可能会形成沉淀，需把沉淀打散再过柱，否则容易造成堵柱情况。
6. 将 HiBind[®] RNA Mini Column 套入收集管中，转移第 5 步得到的混合液（< 700 μ L）到结合柱中，包含所形成的沉淀物，室温 10,000xg 离心 1min，弃滤液；
7. 重复步骤 6 直至步骤 5 所有的混合液都离心通过结合柱；

可选 DNase I 消化步骤（需另购 DNase I Set 货号 E1091）

如需使用 DNase I 对 DNA 污染进行消解，请参考第 5 页“DNase I 消化步骤”。
如无需进行 DNA 消解，请接着按第 8 步操作；

8. 将 HiBind[®] RNA Mini Column 套入收集管中，加入 300 μ L RNA Wash Buffer I 至结合柱中，10,000xg 离心 30s，弃滤液；
9. 将 HiBind[®] RNA Mini Column 套回收集管中，加入 500 μ L RNA Wash Buffer II（已加无水乙醇正确稀释）至结合柱中，10,000xg 离心 30s，弃滤液；
注意：RNA Wash Buffer II 在使用前必须按照说明书用无水乙醇进行稀释。
10. 重复步骤 9；
11. 将 HiBind[®] RNA Mini Column 套回收集管中，12,000xg 离心空甩 2min。
12. 将 HiBind[®] RNA Mini Column 套入新的 1.5mL 离心管中，加入 30-50 μ L Nuclease-free Water 至结合柱中，10,000xg 离心 1min 洗脱 RNA，产物放置-70 $^{\circ}$ C 保存。

★ DNase I 消化步骤 (可选步骤)

用户自备试剂：DNase I Digestion Set (货号 E1091)

1. 每一个 HiBind® RNA Mini Column，按照按下表配置 DNase I 溶液：

溶液名称	每份配量
Digestion Buffer	73.5 μ L
RNase-Free DNase I	1.5 μ L
总量	75 μ L

重要提示：

- ✓ DNase I 非常敏感且易发生物理变性，切勿大力涡旋 DNase I 溶液。建议轻柔颠倒离心管进行混匀；
 - ✓ DNase I 混合液需现配现用；
 - ✓ 请使用套装内配套的 Digestion Buffer 消化液，其他消化液与膜上消化操作不配套，可能会降低 RNA 产量及纯度；
 - ✓ 全部操作均在室温下进行，请谨慎且尽量快速地操作。
2. 将 HiBind® RNA Mini Column 套入 2ml 收集管中，往结合柱加入 300 μ L RNA Wash Buffer I，10,000 \times g 室温离心 1min，弃掉滤液；
 3. 将配置好的 75 μ L 的 DNase I 溶液，转移至 HiBind® RNA Mini Column 膜的正中央，切勿打到结合柱壁；
 4. 室温静置 15min；
 5. 加入 400 μ L RNA Wash Buffer I 至 HiBind® RNA Mini Column 中，室温静置 2min，10,000 \times g 离心 1min，弃滤液；
 6. 将 HiBind® RNA Mini Column 套回收集管中，加入 500 μ L RNA Wash Buffer II 至结合柱中，10,000 \times g 离心 1min，弃滤液；
- # 注意：RNA Wash Buffer II 在使用前必须按照说明书用无水乙醇进行稀释。
7. 重复步骤 6；
 8. 将 HiBind® RNA Mini Column 套回收集管中，10,000 \times g 离心空甩 2min。
 9. 将 HiBind® RNA Mini Column 套入新的 1.5mL 离心管中，加入 30-50 μ L

Nuclease-free Water 至结合柱中, 10,000xg 离心 2min 洗脱 RNA, 产物放置-70°C 保存。

★ 产品信息卡



更多详情, 请扫描左方二维码获取原文说明书

中文翻译仅供辅助阅读



常见问题合集及操作注意事项

请扫描左方二维码获取



中国总代理: 广州飞扬生物工程有限公司

技术支持: 020-32051125

企业 QQ: 800848200 (人工客服在线)

中文网站: omegabiotek.com.cn

如需查询代理商名录, 请关注“飞扬生物”微信号获取

售后保障服务说明

为确保您所使用的试剂为正品来源, 请从使用单位所在地指定代理商处购买 Omega bio-tek 产品。由其他渠道购买或任一标签信息(应包括货号、条形码、完整 Lot 号、失效日期)缺失的试剂盒, 我司恕不提供任何质量保证及售后服务。

★ 提取步骤示意图

离心操作流程



真空抽滤操作流程



