



碧云天生物技术/Beyotime Biotechnology
 订货热线: 400-1683301 或 800-8283301
 订货 e-mail: order@beyotime.com
 技术咨询: info@beyotime.com
 网址: http://www.beyotime.com

RNA/蛋白抽提试剂盒

产品编号	产品名称	包装
R0018S	RNA/蛋白抽提试剂盒	25次
R0018M	RNA/蛋白抽提试剂盒	100次

产品简介:

- 碧云天生产的RNA/蛋白抽提试剂盒(RNA/Protein Isolation Kit), 也称RNA/蛋白共抽提试剂盒(RNA/Protein Co-isolation Kit)或RNA/蛋白共提取试剂盒(RNA/Protein Co-extraction Kit), 是一种简单、方便、快速地从培养的动物细胞或组织、植物、酵母、细菌或病毒等单个样品中分步分别提取RNA和蛋白质的试剂盒。本试剂盒特别适合于比较珍贵的样品, 可以实现一个样品同时用于RNA和蛋白质的抽提。本试剂盒不仅适用于少量样品的提取, 还可用于大量不同样品的同时处理, 特别适合同一个样品中RNA和蛋白质后续的同时检测。
- **本试剂盒操作简单, 使用便捷。**本试剂盒操作简单快速, 仅需约1小时即可完成RNA和蛋白质的提取。本试剂盒基于特殊裂解液多组分分离的原理, 分步提取同一个样品的RNA和蛋白质。在样品中加入裂解液后进行裂解或匀浆, 使细胞或组织充分裂解, 加入氯仿混匀并离心后分为三层, 包括上层无色水相(含RNA), 中间相(含DNA和蛋白质)和下层红色有机相(含DNA和蛋白质)。RNA溶于水相中, 取出水相后用异丙醇沉淀即可获得纯化的RNA; 用无水乙醇沉淀中间相和下层红色有机相的DNA, 并进一步用异丙醇沉淀有机相, 可获得纯化的蛋白质。这些沉淀通过洗涤去除其它杂质成分后可用于后续的实验[1-2]。
- **本试剂盒采用高品质抽提试剂。**本试剂盒提供的特殊裂解液可以有效抑制RNA的降解, 保持样品中RNA的完整性; 既可用于小量样品(例如5-100mg组织或20-500万个细胞), 也适用于大量样品(例如大于1g的组织或超过一千万的细胞)。通常, 每一百万细胞可抽提得到5-15 μ g RNA, 每毫克组织可抽提得到1-10 μ g RNA。
- **本试剂盒抽提所得的RNA和蛋白质纯度高, 用途广泛。**抽提所得的总RNA无蛋白、DNA污染, 溶于DEPC水或不含RNase的超纯水后的A260/280值为1.8-2.0, 可直接用于RT-PCR、cDNA克隆、纯化mRNA、Northern blot、Dot blot、体外翻译、以及RNase protection assay等实验, 也可以用于基因表达芯片分析、高通量测序(High-throughput sequencing)等对RNA质量要求较高的实验; 提取的蛋白可用于SDS-PAGE、Western blot、免疫沉淀等分析。
- 本试剂盒小包装和中包装分别可以抽提25个或100个6孔板中的细胞样品或10-80mg的组织样品。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
R0018S-1	裂解液	25ml
R0018S-2	洗涤液I	22ml (第一次使用前需加入44ml无水乙醇)
R0018S-3	洗涤液II	7.5ml (第一次使用前需加入112.5ml无水乙醇)
R0018S-4	蛋白溶解液	5ml
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
R0018M-1	裂解液	100ml
R0018M-2	洗涤液I	88ml (第一次使用前需加入176ml无水乙醇)
R0018M-3	洗涤液II	30ml (第一次使用前需加入450ml无水乙醇)
R0018M-4	蛋白溶解液	20ml
—	说明书	1份

保存条件:

4 $^{\circ}$ C保存, 一年有效。

注意事项:

- 用户需自备无水异丙醇、氯仿、无水乙醇、DEPC水(R0021/ST036)或BeyoPure™ Ultrapure Water (DNase/RNase-Free, Sterile) (ST876)。
- 所有离心管, 枪头及相关溶液都必须无RNA酶污染。耐高温器物可150 $^{\circ}$ C烘烤4小时以去除RNA酶, 其它器物去除RNA酶可考虑用0.01%的DEPC水浸泡过夜, 然后灭菌, 烘干。
- 使用冻存的细胞或组织抽提总RNA的效果通常比新鲜的细胞或组织差一些。因为在细胞或组织冻融过程中一些细胞或组织内的

RNase会被释放出来并剪切样品。如果不能及时抽提RNA，推荐先加入适量裂解液，并裂解样品后冻存。

- 必须戴一次性手套操作，且尽量不要对着RNA样品呼气或说话，以防RNA酶污染。建议戴一次性口罩操作。
- 裂解液含有毒物质，避免接触皮肤或吸入。为防止溅入眼睛，请戴防护眼镜或使用透明保护屏。如皮肤接触裂解液，请立即用大量去垢剂和水冲洗，如仍有不适，请听取医生意见。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明：

1. 准备工作：

洗涤液I、洗涤液II第一次使用前需分别加入相应的无水乙醇。

2. 样品的裂解：

a. 细胞裂解或组织匀浆。

(a) 贴壁细胞。

吸尽培养液，每10cm²细胞加入1ml裂解液。一般6孔板每孔加1ml裂解液，12孔板每孔加0.5ml裂解液。晃动3-5下，再用枪吹打2-3下，确保全部裂解，然后吸至离心管中。

(b) 悬浮细胞。

离心收集细胞，吸尽液体，每500-1000万动植物或酵母细胞，或1000万细菌，加入1ml裂解液。用枪吹打或适当Vortex，确保全部裂解。**注：**某些酵母和细菌如裂解不充分，可用匀浆器匀浆，以确保全部裂解。

(c) 组织。

先将组织剪切成小块，放入普通玻璃匀浆器内。每50-80mg组织加入1ml裂解液，匀浆。对于RNA完整性要求比较高的情况，推荐先液氮冷冻组织块，然后在低温下用研钵研碎组织，随后再加入裂解液进行总RNA抽提。

- b. 对于某些蛋白，多糖或脂含量很高的细胞或组织，裂解液裂解后可能会有不溶物或油脂状漂浮物。需12,000×g在4℃离心10分钟，然后吸取澄清的裂解液裂解产物至一新的离心管中。
- c. 室温孵育5分钟，使样品充分裂解。
- d. 按每毫升裂解液加入0.2ml氯仿，Vortex混匀或剧烈晃动15秒，室温孵育2-3分钟。
- e. 12,000×g在4℃离心15分钟。此时可见分层，分别为无色水相(上层)，中间层和红色有机相(下层)。其中上层无色水相用于RNA的提取(步骤3)，中间层和下层红色有机相用于蛋白质的提取(步骤4)。

3. RNA的提取：

- a. 吸取含总RNA的上层无色水相至一新的离心管中，每毫升最初的裂解液约可吸取0.5-0.55ml。**注：**不要吸到中间层和红色有机相(下层)。如果要分离蛋白质可保留这两部分，4℃可存放过夜。
- b. 按每毫升最初的裂解液加入0.5ml无水异丙醇，颠倒数次混匀，室温沉淀10分钟。如果希望提取microRNA等小RNA，推荐-80℃沉淀过夜。
- c. 12,000×g在4℃离心10分钟，在管底可见RNA沉淀，弃上清。
- d. 每毫升最初的裂解液加入1ml洗涤液I，Vortex或颠倒混匀。
- e. 7,500×g在4℃离心5分钟，弃上清。再用离心机瞬时离心(>5,000×g)，小心吸尽液体。
- f. 待RNA略干后，加入20-50μl DEPC水(R0021/R0022)或BeyoPure™ Ultrapure Water (DNase/RNase-Free, Sterile) (ST876)溶解，-80℃冻存。**注：**切勿让RNA过分干燥，否则将极难溶解，且测出的A260/280值会低于1.6。

4. 蛋白的提取：

- a. 接RNA提取步骤3a，尽可能去除上层的水相后，保留中间相和红色有机相(下层)。
- b. 按每毫升最初的裂解液加入0.3ml无水乙醇，颠倒数次混匀。室温孵育2-3分钟。
- c. 2,000×g在4℃离心5分钟，吸取上清至一新的离心管中。
- d. 按每毫升最初的裂解液加入1.5ml无水异丙醇的量，在上清中加入适量无水异丙醇，室温孵育10分钟。
- e. 12,000×g在4℃离心10分钟，弃上清。
- f. 用洗涤液II洗涤蛋白质沉淀。每毫升最初的裂解液加入1ml洗涤液II，室温孵育20分钟。蛋白质在洗涤液II中，4℃可保存一个月，-20℃可保存一年。
- g. 7500×g在4℃离心5分钟，弃上清。
- h. 重复步骤4f-g 2-3次。
- i. 按每毫升最初的裂解液加入1.5-2ml无水乙醇，Vortex混匀。室温孵育20分钟。
- j. 7500×g在4℃离心5分钟，弃上清。
- k. 室温放置晾干蛋白质沉淀5-10分钟，用200μl蛋白溶解液溶解蛋白质，反复吸打，可用50℃温浴使其完全溶解。
- l. 10,000×g在4℃离心10分钟去除不溶物。
- m. 分离得到的蛋白质样品可用于下游实验或-20℃保存备用。

常见问题：

Problem		Possible Causes
RNA	产量低	样品未完全裂解。
		提取的RNA沉淀没有完全溶解。

	A260/A280 Ratio <1.65	样品量过少。
		无色水相(上层)可能被中间层污染。
	降解	提取的RNA沉淀没有完全溶解。
		获取组织后, 未立即处理或进行冷冻。
		细胞可能被胰蛋白酶过度消化。
		耗材或操作环境中可能含RNase。
	DNA污染	用于样品均质化的裂解液过少。
样品可能含有有机溶剂(乙醇、DMSO)、强缓冲液或碱性溶液。		
蛋白	产量低	样品未完全裂解。
		提取的蛋白沉淀没有完全溶解。
	降解	获取组织后, 未立即处理或进行冷冻。
	PAGE条带变形	蛋白质沉淀未充分洗涤。

参考文献:

1. Jiang J, Ma J, Liu B, Wang Y. Viruses. 2019. 11(4):324.
2. Thorn CE, Bergesch C, Joyce A, Sambrano G, et al. Mol Ecol Resour. 2019. 19(2):439-455.

相关产品:

产品编号	产品名称	包装
D0061	哺乳动物基因组DNA抽提试剂盒	50次
D0063	基因组DNA小量抽提试剂盒(通用型, 离心柱式)	50次
D0065S/M	动物基因组DNA快速抽提试剂盒(PCR分析用)	100/500次
R0011	Beyozol (总RNA抽提试剂)	100ml
R0016	Trizol (总RNA抽提试剂)	100ml
R0017S/M	RNA/DNA抽提试剂盒	25/100次
R0018S/M	RNA/蛋白抽提试剂盒	25/100次
R0019S/M	RNA/DNA/蛋白抽提试剂盒	25/100次
R0021	DEPC水(DNase、RNase free)	100ml
R0022	DEPC水(DNase、RNase free)	500ml
R0024	RNAeasy™动物RNA抽提试剂盒(离心柱式)	12次
R0026	RNAeasy™动物RNA抽提试剂盒(离心柱式)	50次
R0027	RNAeasy™动物RNA抽提试剂盒(离心柱式)	200次
R0028	RNAeasy™动物小RNA抽提试剂盒(离心柱式)	50次
R0032	RNAeasy™ Plus动物RNA抽提试剂盒(离心柱式)	50次
R0035S/M/L	RNAeasy™病毒RNA抽提试剂盒(离心柱式)	12/50/200次
R0046-50ml/250ml	裂解液(RNAeasy™动物RNA抽提试剂盒用)	50/250ml
R0077S/M/L	BeyoMag™磁珠法动物RNA提取试剂盒	10/50/200次
R0081-1ml/5ml/20ml/100ml	BeyoMag™ RNA Clean Magnetic Beads (RNA纯化磁珠)	1ml/5ml/20ml/100ml
P0013	Western及IP细胞裂解液	100ml
P0013B	RIPA裂解液(强)	100ml
P0013C	RIPA裂解液(中)	100ml
P0013D	RIPA裂解液(弱)	100ml
P0013E	RIPA裂解液(强中弱套装)	共150ml
P0013F	NP-40裂解液	100ml
P0013G	SDS裂解液	100ml
P0013J	Western及IP细胞裂解液(无抑制剂)	100ml
P0013K	RIPA裂解液(强, 无抑制剂)	100ml

Version 2023.10.16