

产品目录号:
Z3100
Z3101
Z3105

SV Total RNA 分离纯化系统简明操作步骤

(离心法)



注意: 这是节选操作步骤, 详细英文说明书见 <http://www.promega.com/tbs/tm048/tm048.html>/本简明操作步骤电子版见 www.promega.com.cn

目录	产品	包装	目录号
1. 产品组成和储存条件 (第 1 页)	SV 总 RNA 提取试剂盒	50 次	Z3100
2. 配制试剂 (第 2 页)	仅供实验室使用。每个试剂盒包含的试剂, 足够进行 50 次从组织, 细胞和血液中提取总 RNA 的试剂:		
3. 表 1. 推荐的制备裂解物所用的组织量 (第 4 页)	2 包	收集管 (50 个/包)	
4. RNA 的分离纯化步骤	2 包	洗脱管 (50 个/包)	
4.A. ≤30mg 组织样品 (第 4 页)	2 包	离心柱 (50 个/包)	
4.B. >30mg 组织样品 (第 5 页)	50ml	RNA 裂解液 (RLA)	
4.C. 悬浮或贴壁细胞 (第 7 页)	20ml	RNA 稀释液 (RDA) (蓝色液体)	
4.D. 1ml 全血 (第 10 页)	2ml	β-巯基乙醇 (48.7%)	
4.E. 植物组织 (第 11 页)	1 瓶	DNA 酶 I (冻干粉)	
4.F. 格兰氏阳性 (枯草杆菌) 和格兰氏阴性菌 (大肠杆菌) (第 12 页)	250ul	MnCl ₂ , 0.09M	
4.G. 酵母菌 (第 13 页)	2.5ml	黄色核心缓冲液	
5. 缓冲液和溶液的配方 (第 14 页)	5.3ml	DNase 终止液 (DSA) (浓缩)	
6. 表 2. 从组织和细胞中提取 RNA 的平均产量	58.8ml	RNA 洗涤溶液 (RWA) (浓缩)	
1. 产品组成和储存条件	13ml	无核酸酶水	
	产品	包装	目录号
	SV 总 RNA 提取试剂盒	10 次	Z3101
	仅供实验室使用。每个试剂盒包含的试剂, 足够进行 10 次从组织, 细胞和血液中提取总 RNA 的试剂:		
	2 包	收集管 (5 个/包)	
	2 包	洗脱管 (5 个/包)	
	2 包	离心柱 (5 个/包)	
	10ml	RNA 裂解液 (RLA)	
	4ml	RNA 稀释液 (RDA) (蓝色液体)	
	2ml	β-巯基乙醇 (48.7%)	
	1 瓶	DNA 酶 I (冻干粉)	
	250ul	MnCl ₂ , 0.09M	
	2.5ml	黄色核心缓冲液	
	5.3ml	DNase 终止液 (DSA) (浓缩)	
	11.8ml	RNA 洗涤溶液 (RWA) (浓缩)	
	1.25ml	无核酸酶水	
	存储条件: 将加了 β-巯基乙醇 (BME) 的 RNA 裂解液 (RLA) 存于 4°C。每次用后将盖子盖紧。DNase I 的溶解见 2, 配制试剂部分。将所有其它组分储存在 22-25°C。		



SV Total RNA 分离纯化系统简明操作步骤（离心法）



不要与 Wizard Plus 或者 Wizard Plus SV DNA 纯化系统中的组分结合或者替换使用。

注意：RNA 稀释液（RDA）以及黄色核心缓冲液分别是蓝色和黄色，易于区分。核心缓冲液的黄色可以让使用者看出在 DNA 酶处理步骤中，离心柱的膜是否被 DNase 混合液完全覆盖。染料对于 RNA 质量以及下游实验没有影响。

警告：硫氰酸胍和 β-巯基乙醇是有毒液体。当用到这些溶液时请戴手套并按标准安全操作进行。当操作来自人、受感染的组织、或者血液这类样品时，按照标准操作处理和丢弃有害物质。

2. 配制试剂：

在开始 SV 总 RNA 提取操作之前，要准备 4 种溶液。

注意：在本操作说明中，RNA 裂解液（RLA），RNA 洗涤溶液（RWA）以及 DNA 酶终止液（DSA）指本试剂盒中提供的溶液。一旦按照以下方法配制之后，这些溶液分别叫做 RNA 裂解液，RNA 洗涤液以及 DNase 终止液。

试剂盒 Z3105（250 次）中四种溶液的配制方法：

溶液	准备步骤	注意事项
DNaseI	按 DNase I 冻干粉瓶外所示，将一定量的无核酸酶水（试剂盒已提供）加入其中。	轻轻地旋转混合溶液。 不要震荡(vortex) 。我们建议将溶解的 DNase 分装（如，分成 5-10 等份）到无菌无核酸酶的离心管中。每一次 RNA 提取需要 5ul 的 DNase 溶液。将配好的 DNase I 存放至 -20℃。 不要震荡混合 DNaseI 溶液 不要冻融 DNaseI 溶液超过三次。
RNA 裂解液	将 5ml 的 BME 加入到 250ml 的 RNA 裂解液（RLA）中。	加入 BME 后，即在瓶身上 标注 BME 已加入 。将 RNA 裂解液储存在 4℃。每次使用后将盖子盖紧。
RNA 洗涤液	将 350ml 95% 乙醇加进 206ml 的浓缩 RNA 洗涤溶液（RWA）中。	加入乙醇后，在瓶身上 标记乙醇已加 。试剂在 22-25℃ 稳定，拧紧瓶盖。
DNase 终止液	向 26.5ml 浓缩的 DNase 终止液（DSA）中加入 40ml 95% 乙醇。	加入乙醇后，在瓶身上 标记乙醇已加 。试剂在 22-25℃ 稳定，拧紧瓶盖。



SV Total RNA 分离纯化系统简明操作步骤（离心法）

试剂盒 Z3100 (50 次) 中四种溶液的配制方法:

溶液	准备步骤	注意事项
DNaseI	按 DNase I 冻干粉瓶外所示, 将一定量的无核酸酶水(试剂盒已提供)加入其中。	轻轻的旋转混合溶液。 不要震荡(vortex) 。我们建议将溶解的 DNase 分装(如, 分成 5-10 等份)到无菌无核酸酶的离心管中。每一次 RNA 提取需要 5ul 的 DNase 溶液。将配好的 DNase 储存到-20℃。 ! 不要震荡混合 DNaseI 溶液 ! 不要冻融 DNaseI 溶液超过三次。
RNA 裂解液	将 1ml 的 BME 加入到 50ml 的 RNA 裂解液 (RLA) 中。	加入 BME 后, 即在瓶身上 标注 BME 已加入 。将 RNA 裂解缓冲液储存在 4℃。每次使用后将盖子盖紧。
RNA 洗涤液	将 100ml 95%乙醇加进 58.8ml 的浓缩 RNA 洗涤溶液(RWA)中。	加入乙醇后, 在瓶身上 标记乙醇已加 。试剂在 22-25℃ 稳定, 拧紧瓶盖。
DNase 终止液	向 5.3ml 浓缩的 DNase 终止液(DSA) 中加入 8ml 95%乙醇。	加入乙醇后, 在瓶身上 标记乙醇已加 。试剂在 22-25℃ 稳定, 拧紧瓶盖。

试剂盒 Z3101 (10 次) 中四种溶液的配制方法:

溶液	准备步骤	注意事项
DNaseI	按 DNase I 冻干粉瓶外所示, 将一定量的无核酸酶水(试剂盒已提供)加入其中。	轻轻的旋转混合溶液。 不要震荡(vortex) 。我们建议将溶解的 DNase 分装(如, 分成 5-10 等份)到无菌无核酸酶的离心管中。每一次 RNA 提取需要 5ul 的 DNase 溶液。将配好的 DNase 储存到-20℃。 ! 不要震荡混合 DNaseI 溶液 ! 不要冻融 DNaseI 溶液超过三次。
RNA 裂解液	将 200ul 的 BME 加入到 10ml 的 RNA 裂解液 (RLA) 中。	加入 BME 后, 即在瓶身上 标注 BME 已加入 。将 RNA 裂解缓冲液储存在 4℃。每次使用后将盖子盖紧。
RNA 洗涤液	将 20ml 95%乙醇加进 11.8ml 的浓缩 RNA 洗涤溶液(RWA)中。	加入乙醇后, 在瓶身上 标记乙醇已加 。试剂在 22-25℃ 稳定, 拧紧瓶盖。
DNase 终止液	向 5.3ml 浓缩的 DNase 终止液(DSA) 中加入 8ml 95%乙醇。	加入乙醇后, 在瓶身上 标记乙醇已加 。试剂在 22-25℃ 稳定, 拧紧瓶盖。



SV Total RNA 分离纯化系统简明操作步骤（离心法）

3. 表 1. 推荐的制备裂解物所用的组织量

样品材料	30g 小鼠的器官大约湿重	每 175ul 裂解液可用最大组织量	每 ml 裂解液可用最大组织量 ¹
肝脏	940mg	30mg	171mg
肾脏	210mg	20mg	114mg
肌肉 ²	-	30mg	171mg
胰脏	90mg	15mg	85mg
心脏	150mg	60mg	342mg
脑	463mg	60mg	342mg
肺	200mg	60mg	342mg

1. 可被一次有效处理的裂解物最大量是每个离心柱 175ul。如果裂解物含有的 RNA 超过离心柱的容量，在洗涤步骤中有些 RNA 会丢失。注意对于某些器官和组织，处理整个器官（如，小鼠心脏和肺）所需的裂解液小于 1ml。请按建议比例（如 154mg 小鼠心脏，使用大约 450ul RNA 裂解缓冲液进行匀浆）并调节粘度。
2. 没有给出各种肌肉的大约重量。

4. RNA 的分离纯化步骤

4.A. 从少量组织样品(≦30mg)中分离纯化 RNA

请使用者准备下列材料:

- 小型组织匀浆器（如，Brinkmann, tissuemizer® 或 Omini Micro homogenizer）
- 95% 乙醇，无 RNA 酶
- 小离心机
- 水浴或者加热块，预热到 70°C

操作步骤:

要用这个系统得到最好的结果，请使用新鲜组织，储存的组织得到的总 RNA 产量较低。如果必要，请在液氮中收集样品，并立刻冻在 -70°C 将来再用。在 RNA 裂解缓冲液中匀浆的样品可以存在 -20°C 或 -70°C。如果样品珍贵，建议每份样品都在 -70°C 保存一份，以备当 RNA 纯化过程中样品损失时用。由于 RNA 纯化试剂有毒性，而且 RNA 酶无处不在，在裂解和纯化的整个过程中都要带手套。

1. 在一个无菌小离心管中加入 175ul 的 RNA Lysis Buffer(加了 BME 的)，要用无 RNA 酶的枪头，带着手套操作。
2. 称量上述装有 RNA Lysis Buffer 的离心管，记录重量。
3. 用一个无菌刀片迅速将组织切成小块，冻在研钵里的液氮中，用研棒研磨，然后将液氮和磨碎的组织转移

到一个合适大小的无菌离心管中，等液氮挥发后，立即把组织转进装有 175ul RNA Lysis Buffer 的离心管中，颠倒几次，彻底混匀。

4. 称量装有组织和 RNA Lysis Buffer 的离心管，将第 2 步的重量从新重量中减去，就得到组织量的值。一般，组织量和 RNA Lysis Buffer 之比应大约是 30mg/175ul，不过可以根据组织的不同而调整。如果必要，再加一些 RNA Lysis Buffer，以达到这个比例。

注意: 有些裂解的样品（如胰脏）含有大量核酸，细胞碎片和蛋白，使裂解物很粘稠，如果加了 RNA Lysis Buffer 后，样品很粘，不易吸取，可以在第 5 步加 RNA Dilution Buffer 之前再加些 RNA Lysis Buffer 稀释裂解物。注意尽量加入最少量的 RNA Lysis Buffer，使裂解物便于吸取就行。每一个离心柱能处理的最大裂解物体积是 175ul。如果裂解物的体积大于 175ul，就要用另外的 Spin Basket。对于 RNA 含量较低的组织，只要裂解物不难吸取，可以使用更浓缩的裂解物。

5. 向 175ul 裂解物中加入 350ul 的 RNA Dilution Buffer (蓝色)，颠倒 3-4 次混合。70°C，3 分钟。大于 3 分钟可能损害 RNA 的完整性。
6. 12,000-14,000xg 离心 10 分钟。



SV Total RNA 分离纯化系统简明操作步骤（离心法）

带着手套拆开塑料包。为每一个样品取出一只收集管和一个离心柱。如果不需要离心柱的盖子，扭掉就行。盖子是用来取放离心柱的。如果不扭掉，离心时要盖好。收集管要做好标记，离心柱装配体可放在试管架上。注意标记好管子以保证样品不会混乱。操作管子时要带手套。

7. 用移液枪将澄清裂解液移到一无菌离心管中。避免碰到沉淀。

! 如果带过来少量渣滓（细胞碎片）对 RNA 纯化没有有害影响。有时渣滓会在上清表面形成一层固体状物，只要在吸取上清前用枪头把渣滓拨到离心管一边就行了。上清的体积大约是 500ul，但随裂解物中组织量的不同上清体积会有变化。

8. 向澄清裂解液中加入 **200ul 95% 乙醇**，用移液枪吸放 3-4 次以混合。将此混合物转移到离心柱装配体（见右图）中。12,000-14,000 x g 离心 1 分钟。

9. 从离心柱装配体上拿下离心柱，弃去收集管中的液体。将离心柱装回到收集管上。确认 RNA Wash Solution 已用乙醇稀释，如第 2 部分所述。加 **600 ul RNA Wash Solution** 于离心柱装配体。12,000-14,000 x g 离心 1 分钟。

10. 像前次一样清空收集管并置于试管架上。对于每管 RNA 提取，在无菌试管中按顺序混合下列试剂以制备 DNase 孵育混合物：

Yellow Core Buffer	40ul
0.09M MnCl ₂	5ul
DNase I	5ul

仅配制所需要量的 DNase 孵育混合物。轻轻吸放混匀，不要振荡。应在冰上融解 DNase I。

将 **50 ul** 这样新鲜制备的 DNase 孵育混合物直接加到离心柱内的膜上。一定要让溶液与膜接触并完全覆盖膜。孵育混合物是黄色以便于作此观察。

! 在进行第 10 步之前，不要混合 Yello Core Buffer 和 0.09M MnCl₂。Yello Core Buffer 和 0.09M MnCl₂ 应分开储存，在每次 RNA 提取前新鲜混合。

11. 于 20-25°C 孵育 15 分钟。然后，向离心柱中加入 **200ul DNase Stop Solution** (确认已加入乙醇，如第 2 部分所述)，12,000-14,000 x g 离心 1 分钟。不须清空收集管。

12. 加入 **600 ul RNA Wash Solution** (已加入乙醇)，离心 12,000-14,000 x g，1 分钟。

13. 清空收集管，向离心柱内加入 **250ul RNA Wash Solution** (已加入乙醇)，高速离心 2 分钟。

14. 如果盖子还在，从离心柱上扭掉盖子。

15. 为每一个样品从袋中取出一个 1.5ml 带盖洗脱管。将离心柱从收集管上转移到洗脱管上，向膜上加 **100 ul 无核酸酶水**。一定要完全覆盖膜表面。将离心柱装配体放进离心机并使洗脱管的盖子朝外。12,000-14,000 x g 离心 1 分钟。丢弃离心柱。盖好盛有 RNA 的洗脱管，存于 -70 °C。

注意：不建议洗脱体积小于 100ul。如果需要浓度较高的 RNA，建议真空干燥后重悬在较小体积水中。如

果要想得到最大产量的 RNA，建议再用 100ul 水洗脱一次并于 12,000-14,000 x g 离心 1 分钟。

由于起始组织量和 RNA 表达水平的不同，第二次洗脱可能得到 10-20% 更多的 RNA。



向裂解物中加入乙醇

将裂解物转到离心柱装配体上

洗涤

DNase 处理

加 DNase 终止液，洗 2X

洗脱 RNA



SV Total RNA 分离纯化系统简明操作步骤（离心法）

4.B. 从 > 30mg 组织样品中分离纯化 RNA(离心法)

请使用者准备下列材料:

- 小型组织匀浆器（如：Brinkmann, Tissuemizer® 或 Omni Micro homogenizer）
- 95% 乙醇，无 RNA 酶
- 小离心机
- 水浴或者加热块，预热到 70°C

操作步骤:

要用这个系统得到最好的结果，请使用新鲜组织，储存的组织得到的总 RNA 产量较低。如果必要，请在液氮中收集样品，并立刻冻在 -70°C 将来再用。在 RNA 裂解缓冲液中匀浆的样品可以存在 -20°C 或 -70°C。如果样品珍贵，建议每份样品都在 -70°C 保存一份，以备当 RNA 纯化过程中样品损失时用。由于 RNA 纯化试剂有毒性，而且 RNA 酶无处不在，在裂解和纯化的整个过程中都要带手套。

下面操作过程描述了使用 1ml RNA 裂解液对组织裂解和匀浆的方法。请参照表 1 推荐的不同组织类型的用量。

1. 在一个无菌小离心管中加入 1ml 的 RNA Lysis Buffer(加了 BME 的)，要用无 RNA 酶的枪头，带手套操作，以降低 RNA 酶污染的机会。
2. 称量上述装有 RNA Lysis Buffer 的离心管，记录重量。
3. 切下所要组织，放进装有 RNA Lysis Buffer 的离心管中，尽快操作。用小型组织匀浆器（如：Tekmar Tissuemizer® 匀浆器）匀浆，直到没有可见组织块为止。
4. 称量装有组织和 RNA Lysis Buffer 的离心管，将第 2 步的重量从新重量中减去，就得到组织量。一般，组织量和 RNA Lysis Buffer 之比应大约是 171mg/ml，不过可以根据组织的不同而调整（见表 1）。如果必要，再加一些 RNA Lysis Buffer，以达到这个比例。

注意：有些裂解的样品（如胰脏）含有大量核酸、细胞

碎片和蛋白，使裂解物很粘稠，如果加了 RNA Lysis Buffer 后，样品很粘，不易吸取，可以在第 5 步加 RNA Dilution Buffer 之前再加些 RNA Lysis Buffer 稀释裂解物。注意尽量加入最少量的 RNA Lysis Buffer，使裂解物便于吸取就行。每一个离心柱能处理的最大裂解物体积是 175ul。如果裂解物的体积大于 175ul，就要用另外的离心柱。对于 RNA 含量较低的组织，只要裂解物不难吸取，可以使用更浓的裂解物。

5. 将 175ul 组织裂解物中转入 1.5ml 离心管。剩余的裂解物可以冻在 -20°C 或 -70°C。加入 350ul 的 RNA Dilution Buffer (蓝色)，颠倒 3-4 次混合。70°C 孵育 3 分钟，大于 3 分钟可能损害 RNA 的完整性。

6. 12,000-14,000 x g 离心 10 分钟。

带着手套拆开塑料包。为每一个样品取出一只收集管和一个离心柱。如果不需要离心柱的盖子，扭掉就行。盖子是用来取放离心柱的。如果不扭掉，离心时要盖好。收集管要做好标记，离心柱装配体（即一个离心柱放在一个收集管上）可放在试管架上。注意标记好管子以保证样品不会混淆。操作管子时要带手套。

7. 用移液枪将澄清裂解液移到一无菌离心管中。避免碰到沉淀。

! 如果带过来少量渣滓（细胞碎片）对 RNA 纯化没有有害影响。有时渣滓会在上清表面形成一层固体状物，只要在吸取上清前用枪头把渣滓拨到离心管一边就行了。上清的体积大约是 500ul，但随裂解物中组织量的不同上清体积会有变化。

8. 向澄清裂解液中加入 200ul 95% 乙醇，用移液枪吸放 3-4 次以混合。将此混合物转移到离心柱装配体（见第 5 页右图）中。12,000-14,000 x g 离心 1 分钟。

9. 从离心柱装配体上拿下离心柱，弃去收集管中的液体。将离心柱装回到收集管上。确认 RNA Wash Solution 已用乙醇稀释，如第 2 部分所述。加 600 ul RNA Wash Solution 于离心柱装配体。12,000-14,000 x g 离心 1 分钟。



SV Total RNA 分离纯化系统简明操作步骤（离心法）

10. 像前次一样清空收集管并置于试管架上。对于每管 RNA 提取，在无菌试管中按顺序混合下列试剂以制备 DNase 孵育混合物：

Yellow Core Buffer	40ul
0.09M MnCl ₂	5ul
DNase I	5ul

仅配制所需要量的 DNase 孵育混合物。轻轻吸放混匀，不要振荡。应在冰上融解 DNase I。

将 50 ul 这样新鲜制备的 DNase 孵育混合物直接加到离心柱内的膜上。一定要让溶液与膜接触并完全覆盖膜。孵育混合物是黄色以便于作此观察。

! 在进行第 10 步之前，不要混合 Yello Core Buffer 和 0.09M MnCl₂。Yello Core Buffer 和 0.09M MnCl₂ 应分开储存，在每次 RNA 提取前新鲜混合。

11. 于 20-25°C 孵育 15 分钟。然后，向离心柱中加入 200ul DNase Stop Solution (确认已加入乙醇，如第 2 部分所述)，12,000-14,000 x g 离心 1 分钟。不须清空收集管。

12. 加入 600 ul RNA Wash Solution (已加入乙醇)，离心 12,000-14,000 x g，1 分钟。

13. 清空收集管，向离心柱内加入 250ul RNA Wash Solution (已加入乙醇)，高速离心 2 分钟。

14. 如果盖子还在，从离心柱上扭掉盖子。

15. 为每一个样品从袋中取出一个 1.5ml 带盖洗脱管。将离心柱从收集管上转移到洗脱管上，向膜上加 100 ul 无核酸酶水。一定要完全覆盖膜表面。将离心柱装配体（离心柱加洗脱管）放进离心机并使洗脱管的盖子朝外。12,000-14,000 x g 离心 1 分钟。丢弃离心柱。盖好盛有 RNA 的洗脱管，存于 -70 °C。

注意：不建议洗脱体积小于 100ul。如果需要浓度较高的 RNA，建议真空干燥后重悬在较小体积水中。如果想得到最大产量的 RNA，建议再用 100ul 水洗脱一次并于 12,000-14,000 x g 离心 1 分钟。

由于起始组织量和 RNA 表达水平的不同，第二次洗脱可能得到 10-20%更多的 RNA。

4.C. 从悬浮或贴壁细胞中提取 RNA

使用下列操作步骤裂解悬浮或贴壁细胞。每一样品细胞量在 1.5X10³ 到 5X10⁶ 之间。应根据细胞的类型、功能和收获时的 RNA 表达水平优化所需的细胞数量。

下表是制备裂解物所用细胞量的一个例子：

细胞	每 175ul 裂解液能处理的最大细胞量	1ml 裂解液所能处理的最大细胞量
RAW264.7	1x10 ⁵ -5x10 ⁶	5.7x10 ⁵ -2.8x10 ⁷

1. 贴壁细胞的收获：贴壁细胞可按下列两种方法之一收获。第一个方法用胰酶-EDTA 溶液使细胞脱壁松动。第二个方法用手动刮下细胞进行收获。

胰酶处理方法

请使用者准备(配方在 5 第部分)：

- 1X 胰酶-EDTA 溶液
- 1XPBS

1) 用冰冷无菌的 1XPBS 洗涤细胞。用无菌 1XPBS 配制胰酶-EDTA 溶液。去除最后一次洗涤液 (1XPBS) 后，加入正好能盖住单层细胞量的胰酶溶液：150mm 瓶加 2ml, 100mm 板加 1ml。晃动容器使胰酶分布均匀。把培养板或培养瓶放在 37°C 孵育直到细胞松动(一般 1-2 分钟)。

2) 一旦细胞松动，尽快除去胰酶溶液 (使平板或瓶倾斜以使用枪头尽量除去更多的溶液)。用手掌敲击容器底和边使剩余的贴壁细胞松动。用 1XPBS 涮洗细胞。

3) 把细胞收集到无菌离心管中，500 x g 离心 5 分钟。弃上清。

4). 从下页第 4 步继续。

刮法

对生长多孔板上的细胞，根据细胞类型和孔径大小，每孔可用 3.5X10⁴ 到 1X10⁶ 个细胞。

1) 可在 RNA 裂解液存在下快速刮下细胞制备裂解物。建议 6 孔板和 96 孔板每孔加 175ul RNA 裂解液，培养瓶加量 (如：1-2ml)。除去培养基，用冰冷无菌的 1xPBS



SV Total RNA 分离纯化系统简明操作步骤 (离心法)

洗涤细胞 (配方见第 5 部分)。然后加入 RNA 裂解液, 刮下细胞, 用枪头吸放混匀。

注意: 若是 6 孔或 96 孔板, 从孔底吸放 RNA 裂解液使其与所有细胞接触。有个别孔不需要刮。

2) 如果裂解物太粘稠, 将其通过一个 20G 的注射器针头使基因组 DNA 断裂。将 175ul 细胞裂解物转移到一个 1.5ml 带螺旋盖的管或离心管中。

3) 核实 BME 已加入 RNA 裂解液。向洗过的细胞中加入 175ul RNA 裂解液。震荡/或用枪头吸放打散沉淀, 混匀。

4) 最多 1×10^6 个细胞可容易地裂解于 175ul RNA 裂解液中。 1×10^6 - 5×10^6 个细胞需通过 20G 注射器针头以断裂其基因组 DNA。重复 4-5 次。将裂解物转入 1.5ml 试管。

注意: 如果裂解物太粘稠不易吸取, 就在第 5 步加 RNA Dilution Buffer 之前加一些 RNA 裂解液稀释一下。尽量稍加一些 RNA 裂解液只要裂解物易于吸取即可。

5) 向 175ul 裂解物中加入 350ul RNA Dilution Buffer (蓝色), 颠倒试管 3-4 次混匀, 在 70°C 水浴或加热块孵育 3 分钟。孵育超过 3 分钟可能有损 RNA 的完整性。

6) 在 25°C, 12,000-14,000 x g 离心 10 分钟。接右栏第 6 步之后操作。

2. 悬浮细胞的收获。

请使用者准备:

- 10XPBS
- 95%乙醇, 无 RNA 酶的
- 70°C 加热块或水浴
- 20G 注射器针头和相配的针筒
- 小型离心机

3. 在一个无菌 50ml 锥形离心管中收集 1.5×10^3 - 5×10^6 个细胞, 300 x g 离心 5 分钟。用 25ml 冰冷无菌的 1XPBS 洗涤细胞沉淀。300 x g 离心 5 分钟收集细胞, 弃上清。

4. 确认 BME 已加入 RNA 裂解液。向洗过的细胞中加入 175ul RNA 裂解液。震荡/或用枪头吸放打散沉淀, 混匀。

最多 1×10^6 个细胞可容易地裂解于 175ul RNA 裂解液中。 1×10^6 - 5×10^6 个细胞需通过 20G 注射器针头以断裂其基因组 DNA。重复 4-5 次。将裂解物转入 1.5ml 试管。

注意: 如果裂解物太粘稠不易吸取, 就在第 5 步加 RNA Dilution Buffer 之前再加一些 RNA 裂解液稀释一下。尽量稍加一些 RNA 裂解液只要裂解物易于吸取即可。

5. 向 175ul 裂解物中加入 350ul RNA Dilution Buffer (蓝色), 颠倒试管 3-4 次混匀, 在 70°C 水浴或加热块孵育 3 分钟。孵育超过 3 分钟可能有损 RNA 的完整性。

6. 在 20-25°C, 12,000-14,000 x g 离心 10 分钟。

在一个小塑料包中装有 5 个离心柱装配体 (离心柱放在 2ml 收集管上) 和 5 个带盖的洗脱管 (1.5ml)。带着手套拆包装。每一个样品取出一套离心柱装配体。再把塑料包用胶带封紧。每一套离心柱装配体包括一个离心柱和一个收集管。如果不需要离心柱的盖子, 扭掉就行。盖子是用来取放离心柱的。如果不扭掉, 离心时要盖好。收集管要做好标记, 离心柱装配体可放在试管架上。注意标记好管子以保证样品不会混乱。操作管子时要带手套。

7. 用移液枪将澄清裂解液移到一无菌离心管中。避免碰到沉淀。



如果带过来少量渣滓 (细胞碎片) 对 RNA 纯化没有有害影响。有时渣滓会在上清表面形成一层固体状物, 只要在吸取上清前用枪头把渣滓拨到离心管一边就行了。上清的体积大约是 500ul, 但随裂解物中组织量的不同上清体积会有变化。

11. 向澄清裂解液中加入 200ul 95% 乙醇, 用移液枪吸放 3-4 次以混合。将此混合物转移到离心柱装配体 (见第 5 页右图) 中。12,000-14,000 x g 离心 1 分钟。

12. 从离心柱装配体上拿下离心柱, 弃去收集管中的液体。将离心柱装回到收集管上。确认 RNA Wash Solution 已用乙醇稀释, 如第 2 部分所述。加 600 ul RNA Wash Solution 于离心柱装配体。12,000-14,000 x g 离心 1 分钟。

13. 像前次一样清空收集管并置之于试管架上。对于每管 RNA 提取, 在无菌试管中按顺序混合下列试剂以制备 DNase 孵育混合物:



SV Total RNA 分离纯化系统简明操作步骤（离心法）

Yellow Core Buffer	40ul
0.09M MnCl ₂	5ul
DNase I	5ul

仅配制所需要量的 DNase 孵育混合物。**轻轻吸放混匀，不要振荡。**应在冰上融解 DNase I。

将 **50 ul** 这样新鲜制备的 DNase 孵育混合物直接加到离心柱内的膜上。一定要让溶液与膜接触并完全覆盖膜。孵育混合物是黄色以便于作此观察。

! 在进行第 10 步之前，**不要混合** Yello Core Buffer 和 0.09M MnCl₂。**Yello Core Buffer 和 0.09M MnCl₂ 应分开储存，在每次 RNA 提取前新鲜混合。**

11. 于 20-25°C 孵育 15 分钟。然后，向离心柱中加入 **200ul DNase Stop Solution** (确认已加入乙醇，如第 2 部分所述)，12,000-14,000 x g 离心 1 分钟。不须清空收集管。

12. 加入 **600 ul RNA Wash Solution** (已加入乙醇)，离心 12,000-14,000 x g，1 分钟。

13. 清空收集管，向离心柱内加入 250ul RNA Wash Solution (已加入乙醇)，高速离心 2 分钟。

14. 如果盖子还在，从离心柱上扭掉盖子。

15. 为每一个样品从袋中取出一个 1.5ml 带盖洗脱管。注意每个离心柱只配有一个洗脱管。再将袋口用胶带封好。将离心柱从收集管上转移到洗脱管上，向膜上加 **100 ul 无核酸酶水**。一定要完全覆盖膜表面。将离心柱装配体放进离心机并使洗脱管的盖子朝外。12,000-14,000 x g 离心 1 分钟。丢弃离心柱。盖好盛有 RNA 的洗脱管，存于 -70 °C。

注意：不建议洗脱体积小于 100ul。如果需要浓度较高的 RNA，建议真空干燥后重悬在较小体积水中。如果想得到最大产量的 RNA，建议再用 100ul 水洗脱一次并于 12,000-14,000 x g 离心。

由于起始组织量和 RNA 表达水平的不同，第二次洗脱可能得到 10-20%更多的 RNA。

4.D. 从 1ml 血液中提取 RNA

可以按照从 ≤30mg 组织中提取 RNA 的方法（第 4 页）从 100ul 全血、血浆或血清中提取 RNA。

以下操作方法可按比例缩小到提取 ≥100ul 全血中的 RNA。一般产量为 0.75-1.50ug/ml 全血。

请使用者准备的材料

- 按第 2 部分所述配制试剂。
- 水浴或预热到 70°C 的加热块
- 无 RNA 酶的 95%乙醇
- 小型离心机
- RNA 红细胞裂解液（即 CLB，目录号 Z3141，或按下列配方配制：5mM MgCl₂，10mM NaCl，10mM Tris-HCl(pH7.0))

操作步骤

1. 取 1ml 收集在肝素或 EDTA 处理过的试管中的全血，放进无菌离心管中。
注意： 1.5-2ml 小离心管最多可处理 1 毫升全血。更多的全血可用 15 毫升锥底管和临床用离心机处理。
2. 收集血细胞：3,000 rpm (400 x g) 离心 5 分钟，得到相对清亮的上清液（大约占 30%的体积）和一大块细胞沉淀物（大约占 60-70%总体积）。小心地从样品顶部吸走上清。格外小心不要搅到细胞沉淀。注意由于红细胞裂解，血浆可能是红色。
3. 加 1 毫升红细胞裂解液，小心吸放 4-5 次，重悬沉淀物。
注意： 三倍体积（相对于原来血液体积）的红细胞裂解液就足够裂解红细胞。如果用了较大的离心管，能够一次装下 3 倍体积的裂解液，一次重悬就够了。
4. 3,000 rpm 离心 5 分钟。
注意： 在这一步，**清晰的沉淀物可能是看不见的**。用移液管从顶部移走 1 毫升上清，弃去。保留管中剩余的上清液和细胞沉淀。
5. 重复步骤 3，4 两次（共三次）
注意： 因为白细胞占总血液体积的大约 1% ，细胞沉淀物的大小在红细胞裂解的过程中应该显著减小。在 3-5 步的操作中小心防止白细胞丢失。
6. 避开细胞沉淀物，小心吸走几乎所有上清，只保留 100ul



SV Total RNA 分离纯化系统简明操作步骤（离心法）

上清液。确认一下 BME 已经加到 RNA 裂解液中。然后加 175ul RNA 裂解液到细胞中。吸放重悬并裂解细胞。

7. 加 350ul RNA 稀释液（蓝色）。颠倒混合 3-4 次。
8. 在 70°C 水浴或加热块上加热 3 分钟。孵育超过 3 分钟可能导致 RNA 断裂。
9. 在 20-25°C，12,000-14,000 x g 离心 10 分钟。
10. 将清亮裂解物转移到一支无菌离心管中。
11. 向澄清裂解液中加入 **200ul 95% 乙醇**，用移液枪吸放 3-4 次以混合。将此混合物转移到离心柱装配体（见第 5 页右图）中。12,000-14,000 x g 离心 1 分钟。
12. 从离心柱装配体上拿下离心柱，弃去收集管中的液体。将离心柱装回到收集管上。确认一下 RNA Wash Solution 已用乙醇稀释（如第 2 页配制试剂所述）。加 **600 ul RNA 洗涤液** 于离心柱装配体。12,000-14,000 x g 离心 1 分钟。
13. 像前次一样清空收集管并置之至于试管架上。对于每管 RNA 提取，在无菌试管中**按顺序**混合下列试剂以制备 DNase 孵育混合物：

Yellow Core Buffer	40ul
0.09M MnCl ₂	5ul
DNase I	5ul

仅配制所需要量的 DNase 孵育混合物。**轻轻吸放混匀，不要振荡。** DNase I 融解后应一直放在冰上。

将 **50ul** 这样新鲜制备的 DNase 孵育混合物直接加到离心柱内的膜上。一定要让溶液与膜接触并完全覆盖膜。孵育混合物是黄色以便于作此观察。

! 在进行第 13 步之前，**不要混合** Yello Core Buffer 和 0.09M MnCl₂。Yello Core Buffer 和 0.09M MnCl₂ 应分开储存，在每次 RNA 提取前新鲜混合。

14. 于 20-25°C 孵育 15 分钟。然后，向离心柱中加入 **200ul DNase Stop Solution** (确认已加入乙醇,如第 2 页试剂配制所述), 12,000-14,000 x g 离心 1 分钟。不须清空收集管。
15. 加入 **600 ul RNA 洗涤液** (已加入乙醇), 离心 12,000-14,000 x g, 1 分钟。
16. 清空收集管, 向离心柱内加入 250ul RNA 洗涤液 (已加入乙醇), 高速离心 2 分钟。
17. 如果离心柱的盖子还在, 从离心柱上扭掉盖子。
18. 为每一个样品从袋中取出一个 1.5ml 带盖洗脱管。再将袋口用胶带封好。注意每套离心柱装配体只配有一个洗脱管。将离心柱从收集管上转移到洗脱管上, 向膜上加 **100 ul 无核酸酶水**。一定要完全覆盖膜表面。将离心柱装配体放进离心机并使洗脱管的盖子朝外。12,000-14,000 x g 离心 1 分钟。丢弃离心柱。盖好盛有 RNA 的洗脱管, 存于 -70 °C。

注意:

1. 从 1ml 的血液中纯化的 RNA 取 1ul 可通过 RT-PCR 检测到丰度高的 RNA (例如 β-actin)。丰度低的 RNA 的检测可能需要大量的 RNA 洗脱液做模板 (如: 10ul)。
2. 由于血液样品中的 RNA 量低, 所以不推荐用分光光度计检测 RNA 的产量和纯度。
3. 不建议洗脱体积小于 100ul。如果需要浓度较高的 RNA, 建议真空干燥后重悬在较小体积水中。如果要想得到最大产量的 RNA, 建议再用 100ul 水洗脱一次并于 12,000-14,000 x g 离心。

由于起始组织量和 RNA 表达水平的不同, 第二次洗脱可能得到 10-20%更多的 RNA。



SV Total RNA 分离纯化系统简明操作步骤（离心法）

4.E. 从植物组织中提取 RNA

参考 Kobs, G. (1998) Isolation of RNA from plant, yeast and bacteria. *Promega Notes* **68**, 28–9.

http://www.promega.com/pnotes/68/7381_28/7381_28_core.pdf

1. 在液氮中冷冻植物组织，然后用研钵研杵磨碎。
2. 将30mg磨碎的组织加到175ulRNA裂解液中。
3. 加350ul RNA 稀释液。颠倒混匀，在小型离心机中以最大速度离心10分钟。
4. 用移液枪将上清转移到一支新离心管中。
5. 向澄清裂解液中加入 **200ul 95% 乙醇**，用移液枪吸放 3-4 次以混合。将此混合物转移到离心柱装配体（见第 5 页右图）中。12,000-14,000 x g 离心 1 分钟。
6. 从离心柱装配体上拿下离心柱，弃去收集管中的液体。将离心柱装回到收集管上。确认 RNA Wash Solution 已用乙醇稀释，如第 2 部分所述。加 **600 ul RNA Wash Solution** 于离心柱装配体。12,000-14,000 x g 离心 1 分钟。
7. 像前次一样清空收集管并置之于一试管架上。对于每管 RNA 提取，在无菌试管中**按顺序**混合下列试剂以制备 DNase 孵育混合物：

Yellow Core Buffer	40ul
0.09M MnCl ₂	5ul
DNase I	5ul

仅配制所需要量的 DNase 孵育混合物。**轻轻吸放混匀，不要振荡。**应在冰上融解 DNase I。

将 **50 ul** 这样新鲜制备的 DNase 孵育混合物直接加到离心柱内的膜上。一定要让溶液与膜接触并完全覆盖膜。孵育混合物是黄色以便于作此观察。

! 在进行第 10 步之前，**不要混合** Yello Core Buffer 和 0.09M MnCl₂。**Yello Core Buffer 和 0.09M MnCl₂ 应分开储存，在每次 RNA 提取前新鲜混合。**

7. 于 20-25°C 孵育 15 分钟。然后，向离心柱中加入 **200ul DNase Stop Solution** (确认已加入乙醇，如第 2 部分所述)，12,000-14,000 x g 离心 1 分钟。不须清空收集管。
8. 加入 **600 ul RNA Wash Solution** (已加入乙醇)，离心 12,000-14,000 x g，1 分钟
9. 清空收集管，向离心柱内加入 250ul RNA Wash Solution (已加入乙醇)，高速离心 2 分钟。
10. 如果盖子还在，从离心柱上扭掉盖子。
11. 为每一个样品从袋中取出一个 1.5ml 带盖洗脱管。注意每个离心柱只配有一个洗脱管。再将袋口用胶带封好。将离心柱从收集管上转移到洗脱管上，向膜上加 **100 ul 无核酸酶水**。一定要完全覆盖膜表面。将离心柱装配体放进离心机并使洗脱管的盖子朝外。12,000-14,000 x g 离心 1 分钟。丢弃离心柱。盖好盛有 RNA 的洗脱管，存于-70 °C。

注意: 不建议洗脱体积小于 100ul。如果需要浓度较高的 RNA，建议真空干燥后重悬在较小体积水中。如果要想得到最大产量的 RNA，建议再用 100ul 水洗脱一次并于 12,000-14,000 x g 离心。

由于起始组织量和 RNA 表达水平的不同，第二次洗脱可能得到 10-20%更多的 RNA。



SV Total RNA 分离纯化系统简明操作步骤（离心法）

4.F. 从格兰氏阳性（枯草杆菌）和格兰氏阴性（大肠杆菌）中提取RNA

参考 Kobs, G. (1998) Isolation of RNA from plant, yeast and bacteria. *Promega Notes* **68**, 28–9.

http://www.promega.com/pnotes/68/7381_28/7381_28_core.pdf

注意:

对某些葡萄球菌，要用60ul 10mg/ml溶菌酶和60ul 10mg/ml 的溶葡萄球菌素(lysostaphin)的混合液才能有效溶解。不过，许多格兰氏阳性细菌（如 *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus*, *Arthrobacter luteus*, *Nocardia otitidiscaviarum*, *Rhodococcus rhodochrous* and *Brevibacterium albidium*）仅用溶菌酶就能有效融解。

1. 在合适的培养基，合适的温度中过夜培养细菌。第二天，按1:50接种并培养至OD600 达0.6-1.0。这可能只需要几小时。如果生长太慢，可加大接种量。

⚠ 不要用过夜培养物提取RNA。

2. 向1.5ml离心管中加入1ml细菌。14,000 x g 离心2分钟。

3. 小心地、尽可能多地除去上清，留下细菌沉淀。

4. 用100ul **新配**的含溶菌酶的TE溶液重悬沉淀。格兰氏阳性菌用3mg/ml（终浓度）溶菌酶，格兰氏阴性菌用0.4mg/ml（终浓度）溶菌酶。轻轻敲打混匀。

5. 室温孵育。格兰氏阳性菌孵育5-10分钟，革兰氏阴性菌孵育3-5分钟。

6. 加入75ul RNA裂解液。

7. 加入350ul RNA稀释液，颠倒混匀。**不要离心。**

⚠ 在这步不要离心，否则RNA会损失到裂解物中。

8. 向澄清裂解液中加入 **200ul 95% 乙醇**，用移液枪吸放3-4 次以混合。将此混合物转移到离心柱装配体（见第5页右图）中。12,000-14,000 x g 离心 1 分钟。

9. 从离心柱装配体上拿下离心柱，弃去收集管中的液体。将离心柱装回到收集管上。确认 RNA Wash Solution 已用乙醇稀释，如第2部分所述。加 **600 ul RNA Wash Solution** 于离心柱装配体。12,000-14,000 x g 离心 1 分钟。

10. 像前次一样清空收集管并置之于试管架上。对于每管 RNA 提取，在无菌试管中**按顺序**混合下列试剂以制备 DNase 孵育混合物：

Yellow Core Buffer 40ul

0.09M MnCl₂ 5ul

DNase I 5ul

仅配制所需要量的 DNase 孵育混合物。**轻轻吸放混匀，不要振荡。**应在冰上融解 DNase I。

将 **50 ul** 这样新鲜制备的 DNase 孵育混合物直接加到离心柱内的膜上。一定要让溶液与膜接触并完全覆盖膜。孵育混合物是黄色以便于作此观察。

⚠ 在进行第10步之前，**不要混合** Yello Core Buffer 和 0.09M MnCl₂。**Yello Core Buffer 和 0.09M MnCl₂ 应分开储存，在每次 RNA 提取前新鲜混合。**

11. 于 20-25°C 孵育 15 分钟。然后，向离心柱中加入 **200ul DNase Stop Solution** (确认已加入乙醇，如第2部分所述)，12,000-14,000 x g 离心 1 分钟。不须清空收集管。

12. 加入 **600 ul RNA Wash Solution**（已加入乙醇），离心 12,000-14,000 x g，1 分钟。

13. 清空收集管，向离心柱内加入 250ul RNA Wash Solution（已加入乙醇），高速离心 2 分钟。

14. 如果盖子还在，从离心柱上扭掉盖子。

15. 为每一个样品从袋中取出一个 1.5ml 带盖洗脱管。将离心柱从收集管上转移到洗脱管上，向膜上加 **100 ul 无核酶水**。一定要完全覆盖膜表面。将离心柱装配体放进离心机并使洗脱管的盖子朝外。12,000-14,000 x g 离心 1 分钟。丢弃离心柱。盖好盛有 RNA 的洗脱管，存于-70 °C。

注意：不建议洗脱体积小于 100ul。如果需要浓度较高的 RNA，建议真空干燥后重悬在较小体积水中。如果要想得到最大产量的 RNA，建议再用 100ul 水洗脱一次并于 12,000-14,000 x g 离心 1 分钟。

由于起始组织量和 RNA 表达水平的不同，第二次洗脱可能得到 10-20%更多的 RNA。



SV Total RNA 分离纯化系统简明操作步骤（离心法）

4.G. 从酵母菌中提取总RNA

参考Kobs, G. (1998) Isolation of RNA from plant, yeast and bacteria. *Promega Notes* 68, 28–9.

http://www.promega.com/pnotes/68/7381_28/7381_28_core.pdf

1. 在合适的培养基，合适的温度中过夜培养酵母菌。第二天，按1:50接种并培养至OD600 达0.6-1.0。这可能只需要几小时。
2. 取1ml 以上培养物，14,000 x g 离心2分钟。
3. 将沉淀重悬在100ul下列溶液中：

1M 山梨醇

0.1M EDTA (pH7.4)

在使用前加0.1% β-巯基乙醇和50单位的酵母溶解酶 (lyticase) 或消解酶 (zymolase) (Sigma有售)。

4. 30°C 孵育15-30分钟直到溶液看起来清亮。
5. 加入75ul RNA裂解液，轻轻混合。
6. 加入350ul RNA稀释液（蓝色）颠倒混匀，在小型离心机中最高速离心10分钟。
7. 用移液枪将上清转移到一支新离心管中。
8. 向澄清裂解液中加入 **200ul 95% 乙醇**，用移液枪吸放3-4 次以混合。将此混合物转移到离心柱装配体（见第5页右图）中。12,000-14,000 x g 离心 1 分钟。
9. 从离心柱装配体上拿下离心柱，弃去收集管中的液体。将离心柱装回到收集管上。确认 RNA Wash Solution 已用乙醇稀释，如第2部分所述。加 **600 ul RNA Wash Solution** 于离心柱装配体。12,000-14,000 x g 离心 1 分钟。
10. 像前次一样清空收集管并置之于试管架上。对于每管 RNA 提取，在无菌试管中**按顺序**混合下列试剂以制备 DNase 孵育混合物：

Yellow Core Buffer	40ul
--------------------	------

0.09M MnCl ₂	5ul
-------------------------	-----

DNase I	5ul
---------	-----

仅配制所需要量的 DNase 孵育混合物。**轻轻吸放混匀，不要振荡。**应在冰上融解 DNase I。

将 **50 ul** 这样新鲜制备的 DNase 孵育混合物直接加到离心柱内的膜上。一定要让溶液与膜接触并完全覆盖膜。孵育混合物是黄色以便于作此观察。

! 在进行第10步之前，**不要混合** Yello Core Buffer 和 0.09M MnCl₂。Yello Core Buffer 和 0.09M MnCl₂ 应分开储存，在每次 RNA 提取前新鲜混合。

11. 于 20-25°C 孵育 15 分钟。然后，向离心柱中加入 **200ul DNase Stop Solution** (确认已加入乙醇，如第2部分所述)，12,000-14,000 x g 离心 1 分钟。不须清空收集管。
12. 加入 **600 ul RNA Wash Solution** (已加入乙醇)，离心 12,000-14,000 x g，1 分钟。

清空收集管，向离心柱内加入 250ul RNA Wash Solution (已加入乙醇)，高速离心 2 分钟。

10. 如果盖子还在，从离心柱上扭掉盖子。

11. 为每一个样品从袋中取出一个 1.5ml 带盖洗脱管。注意每个离心柱只配有一个洗脱管。再将袋口用胶带封好。将离心柱从收集管上转移到洗脱管上，向膜上加 **100 ul 无核酸酶水**。一定要完全覆盖膜表面。将离心柱装配体放进离心机并使洗脱管的盖子朝外。12,000-14,000 x g 离心 1 分钟。丢弃离心柱。盖好盛有 RNA 的洗脱管，存于-70°C。

注意：不建议洗脱体积小于 100ul。如果需要浓度较高的 RNA，建议真空干燥后重悬在较小体积水中。如果要想得到最大产量的 RNA，建议再用 100ul 水洗脱一次并于 12,000-14,000 x g 离心。

由于起始组织量和 RNA 表达水平的不同，第二次洗脱可能得到 10-20%更多的 RNA。



SV Total RNA 分离纯化系统简明操作步骤（离心法）

<p>5. 缓冲液和溶液的配方</p> <p>PBS buffer, 10X (每升) 11.5g Na₂HPO₄ 2g KH₂PO₄ 80g NaCl 2g KCl 溶解在1升无菌去离子水中。1X PBS的pH 应是7.4。</p> <p>trypsin-EDTA 溶液, 1X 0.05% trypsin (w/v) 0.53mM EDTA 溶解于 1X PBS。</p> <p>RNA Lysis Buffer (RLA) 4M GTC 0.01M Tris (pH 7.5) 0.97% β-Mercaptoethanol (when added)</p> <p>红细胞裂解液 (CLB) (用于从血液中提取 RNA)</p>	<p>5mM MgCl₂ 10mM NaCl 10mM Tris-HCl (pH 7.0)</p> <p>DNase Stop Solution (DSA), (浓缩的)</p> <p>5M GTC 10mM Tris-HCl (pH 7.5) 用乙醇稀释后, 终浓度大约是2M guanidine isothiocyanate, 4mM Tris-HCl (pH 7.5) , 57% 乙醇。</p> <p>RNA Wash Solution (RWA) (浓缩的)</p> <p>162.8mM 醋酸钾 27.1mM Tris-HCl (pH 7.5 at 25°C) 用乙醇稀释后, 终浓度 (大约) 是60mM 醋酸钾, 10mM Tris-HCl (pH7.5 at 25°C) , 60% 乙醇。</p> <p>Yellow Core Buffer 0.0225M Tris (pH 7.5) 1.125M NaCl 0.0025% yellow dye (w/v)</p>
--	--

6.表2. 从组织和细胞中提取RNA的平均产量

		最大处理量	每次纯化平均产量 (ug)	平均产量		
				每mg组织	平均 A260/230	平均A260/280
小鼠 组织	肝	30 mg	131	4.4	2.4	1.9
	肾	20 mg	44	2.2	2.1	1.9
	胰	15 mg	79	5.3	2.3	1.9
	脑	60 mg	39	0.65	2.1	2.1
	肌肉	30 mg	22	0.73	1.8	2.1
大鼠 组织	胰腺	30 mg	100	3.5	2.2	1.9
	心脏	60 mg	16	0.27	1.8	2.1
	肺	60 mg	36	0.60	2.0	2.1
细菌	<i>E.coli</i>	~1x10 ⁹ 个细胞	36	没数据	1.6	2.0
酵母	啤酒酵母	~4x10 ⁷ 个细胞	19	没数据	1.7	2.1
植物	马铃薯叶	30 mg	4.6	0.15	1.4	2.0
细胞	RAW264.7	5x10 ⁶ 个细胞	51	没数据	2.0	2.1