

真菌 RNA 提取试剂盒

E.Z.N.A.[®] Fungal RNA Kit

| 货号 | R6840-00 | R6840-01 | R6840-02 |
|--------------------------------------|----------|----------|----------|
| 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 | 100 个 | 400 个 |
| RB Buffer | 5 mL | 30 mL | 100 mL |
| RNA Wash Buffer I | 5 mL | 45 mL | 180 mL |
| RNA Wash Buffer II | 2 mL | 12 mL | 50 mL |
| Nuclease-free Water | 5 mL | 20 mL | 50 mL |
| User Manual | ✓ | ✓ | ✓ |

★ 保存方式及稳定性

- 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。
- 当贮存温度较低时，有些组分如 RB 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。
- 本试剂盒仅限科学研究使用。

★ 实验前准备

- 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 |
|----------|----------|
| R6840-00 | 8 mL |
| R6840-01 | 48 mL |
| R6840-02 | 200 mL |

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

★ 用户自备仪器及耗材：

- ✓ 离心转速可达 10,000xg 的小型低温离心机
- ✓ 无酶吸头及 1.5mL 离心管
- ✓ 无水乙醇、70%乙醇（由无酶水配置）、水饱和酚、氯仿、2M NaAc (pH4.0)
- ✓ 液氮
- ✓ (可选) 14.3M 2-巯基乙醇、真空抽滤装置、DNase I 消化套装 (货号 E1091)

★ 提取步骤

1. 把样品先用液氮浸泡冷冻，然后用机械研磨仪或者研钵将样品研磨成粉末状，然后称量 < 100mg 样品粉末到 1.5 或 2 mL 离心管中，加入 500 μ L RB Buffer/2-巯基乙醇。

注意：一开始建议从 50mg 组织开始提取，得到理想的结果后再增加样品量。加入裂解液前样品建议最好不要解冻，加入 RB Buffer 后进行充分涡旋，以确保所有样品都被均匀分散。每 1mL 的 RB Buffer 在使用前需加入 20 μ L 2-巯基乙醇。

2. 加入 500 μ L 的水饱和酚和 100 μ L 2M NaAc (pH4.0) 到样品中，高速涡旋 15s。
3. 加 200 μ L 氯仿到样品中，高速涡旋 15s 混匀，冰浴 10min。
4. 4 $^{\circ}$ C 12,000xg 离心 15min。混合液分离层有机相，中间层和上层水相，RNA 存在于水相中。
5. 转移上层水相到新的离心管中，加入等体积的 70%乙醇，涡旋混匀。
6. 将 HiBind[®] RNA Mini Column 套入收集管中，转移步骤 5 的混合液（每次转移的混合液 \leq 700 μ L），室温 13,000xg 离心 15s，弃滤液；
7. 重复步骤 6，直至所有混合液都结合到 HiBind[®] RNA Mini Column 上；

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 4 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 500 μ L RNA Wash Buffer

I 至 HiBind® RNA Mini Column 中, 10,000xg 离心 30s, 弃滤液;

9. 将 HiBind® RNA Mini Column 套回收集管中, 加入 700 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, 13,000xg 离心空甩 2min。

12. 将 HiBind® RNA Mini Column 套入新的 1.5mL 离心管中, 加入 50-100 μ L Nuclease-free Water 至结合柱中, 13,000xg 离心 1min 洗脱 RNA, 产物放置-70°C 保存。

注意: 以下操作可能帮助提高 RNA 产量:

- 使用前将 Nuclease-free Water 70°C 预热;
- 室温静置 5min;
- 增加洗脱液的体积;
- 用新的 Nuclease-free Water 进行二次洗脱 (可增加产量, 但会导致浓度降低)
- 将第一次洗脱出的 Nuclease-free Water 重新加回到柱子中进行二次洗脱 (可增加洗脱浓度但不增加洗脱体积)

★ DNase I 消化步骤 (可选步骤)

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

按照上述提取步骤完成 1-7 步

1. 每一个 HiBind® RNA Mini 结合柱，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：

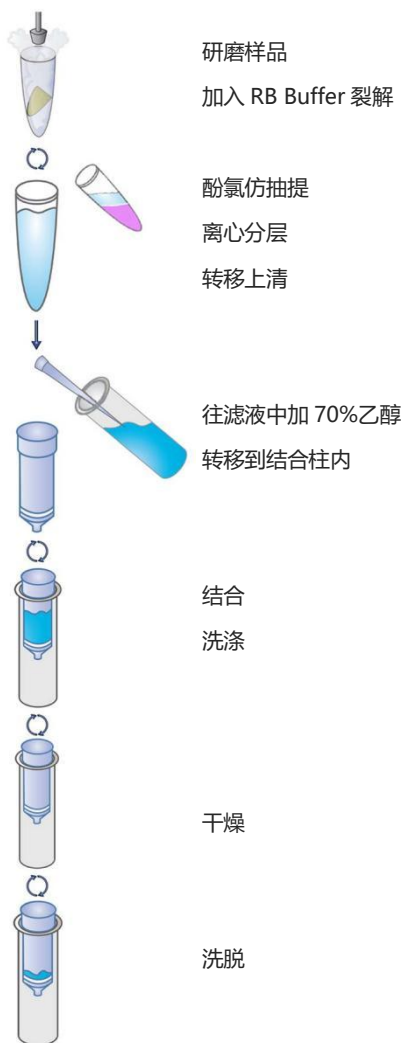
- ✓ DNase I 非常敏感且易发生物理变性，切勿大力涡旋 DNase I 溶液。建议轻柔颠倒离心管进行混匀；
 - ✓ DNase I 混合液需现配现用；
 - ✓ 请使用套装内配套的 Digestion Buffer 消化液，其他消化液与膜上消化操作不配套，可能会降低 RNA 产量及纯度；
 - ✓ 全部操作均在室温下进行，请谨慎且尽量快速地操作。
2. 将 HiBind® RNA Mini Columns 套入 2ml 收集管中，往 HiBind® RNA Mini Column 加入 300 μ L RNA Wash Buffer I，10,000 \times g 室温离心 1min，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 (25~30 $^{\circ}$ C) 静置 15min；
 5. 加入 500 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 (已加无水乙醇正确稀释) 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, 10,000xg 离心空甩 2min。
9. 将 HiBind® RNA Mini Column 套入新的 1.5mL 离心管中, 加入 50-100 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。

注意: 以下操作可能帮助提高 RNA 产量:

- 使用前将 Nuclease-free Water 70°C 预热;
- 室温静置 5min;
- 增加洗脱液的体积;
- 用新的 Nuclease-free Water 进行二次洗脱 (可增加产量, 但会导致浓度降低)

★ 提取步骤示意图



★ 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。