



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/DNA/蛋白抽提试剂盒

产品编号	产品名称	包装
R0019S	RNA/DNA/蛋白抽提试剂盒	25次
R0019M	RNA/DNA/蛋白抽提试剂盒	100次

产品简介:

- 碧云天生产的RNA/DNA/蛋白抽提试剂盒(RNA/DNA/Protein Isolation Kit), 也称RNA/DNA/蛋白共抽提试剂盒(RNA/DNA/Protein Co-isolation Kit)或RNA/DNA/蛋白共提取试剂盒(RNA/DNA/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、基因组DNA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、DNA和蛋白的抽提。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、DNA和蛋白质后续同步检测。
- 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、DNA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、DNA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可溶物, 可获得纯化的DNA; 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; 既可用于少量样品(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、DNA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; 抽提所得的DNA适用于Southern杂交、基因组DNA的PCR扩增、基因组DNA的甲基化等修饰分析及基因组DNA文库的构建等实验; 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
R0019S-1	裂解液	25ml
R0019S-2	洗涤液I	22ml (第一次使用前需加入44ml无水乙醇)
R0019S-3	洗涤液II	66ml
R0019S-4	洗涤液III	7.5ml (第一次使用前需加入112.5ml无水乙醇)
R0019S-5	DNA溶解液	15ml
R0019S-6	蛋白溶解液	5ml
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
R0019M-1	裂解液	100ml
R0019M-2	洗涤液I	88ml (第一次使用前需加入176ml无水乙醇)
R0019M-3	洗涤液II	260ml
R0019M-4	洗涤液III	30ml (第一次使用前需加入450ml无水乙醇)
R0019M-5	DNA溶解液	60ml
R0019M-6	蛋白溶解液	20ml
—	说明书	1份

保存条件:

4°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°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III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°C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混匀或猛烈晃动15秒, 室温孵育2-3分钟。

e. 12,000×g在4°C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分别用于DNA和蛋白质的提取(步骤4、5)。

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DNA和蛋白质可保留这两部分, 4°C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°C沉淀过夜。

c. 12,000×g在4°C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°C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°C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. DNA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°C离心5分钟以沉淀DNA。如果需提取蛋白质, 吸取上清至一新的离心管中, -80°C可存放1-2个月, 操作步骤见步骤5。

d. 吸除上清后, 用洗涤液II洗涤DNA沉淀, 每毫升最初的裂解液加入0.8ml洗涤液II。室温孵育30分钟, 期间轻柔颠倒混匀2-3次。注: DNA在洗涤液II中2小时内稳定。

e. 2,000×g在4°C离心5分钟, 弃上清。

f. 重复步骤4d-e步骤一次。注: 对于>200μg的DNA, 步骤4d-e须重复两次, 即共计3次。

g. 按每毫升最初的裂解液加入1.5ml洗涤液I洗涤DNA沉淀, 室温孵育10-20分钟, 期间轻柔颠倒混匀2-3次。注: 加入洗涤液I的DNA沉淀在4°C可存放1-2个月。

h. 2,000×g在4°C离心5分钟, 弃上清。

i. 室温放置晾干DNA沉淀5-15分钟, 无明显液体后, 加入适量DNA溶解液溶解。可60°C温浴或适当增加DNA溶解液的量以促进DNA溶解。

注1: 从50-70mg组织或者10⁷个细胞中分离的DNA沉淀溶于300-600μl DNA溶解液, DNA的浓度通常为0.2-0.3μg/μl。

注2: 提取的DNA沉淀可能不易溶于水和中性Tris缓冲液中。

注3: 从某些样品(尤其是组织)中提取的DNA中可能包含一些胶状的不溶物, 可12,000×g在4°C离心10分钟去除。

5. 蛋白的提取:

- 接DNA提取步骤4c, 取沉淀DNA后的上清。
- 每毫升最初的裂解液加入1.5ml无水异丙醇, 室温孵育10分钟。
- 12,000×g在4°C离心10分钟, 弃上清。
- 用洗涤液III洗涤蛋白质沉淀。每毫升最初的裂解液加入1ml洗涤液III, 室温孵育20分钟。蛋白质在洗涤液III中, 4°C可保存一个月, -20°C可保存一年。
- 7500×g在4°C离心5分钟, 弃上清。
- 重复步骤5d-e 2-3次。
- 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。
- 7500×g在4°C离心5分钟, 弃上清。
- 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°C温浴使其完全溶解。
- 10,000×g在4°C离心10分钟去除不溶物。
- 分离得到的蛋白质样品可用于下游实验或-20°C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。		
DNA	产量低	样品未完全裂解。
		提取的DNA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。
		样品提取前储存于-20°C, 而不是-80°C。
	RNA污染	在中间层和红色有机相(下层)中可能存在过多水相。
DNA沉淀未经洗涤液II充分洗涤。		
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:

- Jiang J, Ma J, Liu B, Wang Y. Viruses. 2019. 11(4):324.
- 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)	50ml/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 2023.06.15