**MesPureTM RNA Mini Kit 总RNA小量提取试剂盒 （离心柱型） MR8760**

****

**Technical literature is available at:** [**www.mesgenbio.com**](http://www.mesgenbio.com)**. E-mail MesGen Technical Services if you have questions on use of this system: tech@mesgenbio.com**

**产品简介**

本试剂盒是基于RNA提取试剂Meszol改进后的离心柱式总RNA提取试剂盒，裂解液能充分裂解并匀质化样本。采用独特的硅基质膜吸附技术，通过离心吸附柱在高盐状态下高效结合溶液中的RNA，同时最大限度的有效除去蛋白质、无机盐离子及有机杂质等；可从动物组织、植物组织、各种微生物及培养细胞等样品中快速提取总RNA，每次可处理30-50mg组织或5×106细胞。本试剂盒提取得到的RNA可直接应用于RT-PCR、Northern Blot、Dot Blot、体外翻译等实验。

**试剂盒组成**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **产品组成** | **MR8760-50T** | **MR8760-100T** | **MR8760-250T** |
| **Meszol Reagent** | 50ml | 100ml | 250ml |
| **Solution W1** | 12ml(add 48ml ethanol) | 24ml(add 96ml ethanol) | 60ml(add 240ml ethanol) |
| **RNase-Free Water** | 10ml | 20ml | 25ml |
| **吸附柱** | 50 | 100 | 250 |
| **收集管** | 50 | 100 | 250 |

**注意事项**

1. 使用无RNase的塑料制品和枪头，避免交叉污染。

2. 玻璃器皿应在使用前于180℃高温下干烤4小时，塑料器皿可在0.5 M NaOH中浸泡10分钟，用水冲洗后高压灭菌。

3. 配制溶液应使用无RNase的水。

4. 操作人员戴一次性口罩和手套，实验过程中要勤换手套。

5. 样品应避免反复冻融，否则影响RNA提取得率和质量。

6. 使用前若发现Meszol Reagent有沉淀，可置于56℃水浴几分钟，即可溶解。

7. 第一次使用前应按照试剂瓶标签说明在Solution W1中加入对应体积的无水乙醇。

8. 所有离心步骤若无特殊说明均在室温下进行，且所有操作步骤动作要迅速。

9. 若下游实验对DNA非常敏感，建议用不含RNase的DNase I对RNA进行处理。

**操作方法**

1. 不同来源的样品处理

1a. 植物组织：取新鲜植物组织在液氮中充分研磨或将植物组织剪碎后直接在Meszol Reagent中迅速研磨，每30-50mg组织加入1ml Meszol Reagent，混匀。

**注意：样品体积一般不要超过Meszol Reagent体积的10%。**

1b. 动物组织：取新鲜或-70℃冻存的动物组织尽量剪碎，每30-50mg组织加入1ml Meszol Reagent，匀浆仪进行匀浆处理。或在液氮中研磨后加入1ml Meszol Reagent混匀。

**注意：样品体积一般不要超过Meszol Reagent体积的10%。**

1c. 单层培养细胞：吸去培养液，可直接在培养板中加入适量Meszol Reagent （每10cm2面积需要1ml Meszol Reagent），用取样器反复吹打使细胞裂解。也可用胰蛋白酶处理后，将细胞溶液转移至RNase-Free的离心管中，300×g离心5min，收集细胞沉淀，仔细吸除所有上清，加入Meszol Reagent 1ml混匀。

**注意：1）收集细胞数量不要超过1×107。2）Meszol Reagent加量根据培养板面积决定，不是由细胞数决定。如Meszol Reagent加量不足，可导致提取的RNA中有DNA污染。3）收集细胞时一定要将细胞培养液去除干净，否则会导致裂解不完全，造成RNA的产量降低。**

1d. 细胞悬液：离心收集细胞。每5×106-1×107动物、植物和酵母细胞或每107细菌细胞加入1ml Meszol Reagent。

**注意：1）加Meszol Reagent前不要洗涤细胞，以免RNA降解。2）一些酵母和细菌细胞可能需要匀浆仪或液氮研磨处理。**

1e. 血液处理：直接取新鲜的血液，加入3倍体积的Meszol Reagent（推荐0.25ml全血加入0.75ml Meszol Reagent），充分振荡混匀。

1f. 可选步骤：对于蛋白、脂肪、多糖或胞外物质含量高的样品，如肌肉组织、脂肪组织或植物的块茎，可以在匀浆处理后4℃，12,000 rpm（~13,400×g）离心10min以除去不溶物质，此时沉淀中含胞外物质、多糖和高分子量的DNA，而RNA存在于上清中。

1. 样品中加入Meszol Reagent后反复吹打几次，使样本充分裂解。室温放置5min，使蛋白核酸复合物完全分离。
2. 以每1ml Meszol Reagent加入200μl氯仿的比例加入氯仿，盖好管盖，剧烈振荡15s，室温放置2min。
3. 4℃ 12,000rpm（~13,400×g）离心10min，此时样品分为三层：红色有机相，中间层和上层无色水相，RNA主要在上层水相中，将上层水相移到一个新的RNase-Free离心管（自备）中。
4. 在得到的水相溶液中加入等体积的70%乙醇（RNase-Free Water配制），颠倒混匀。
5. 将上步所得溶液全部加入到已装入收集管的吸附柱中。若一次不能加完溶液，可分多次转入。12,000rpm离心20s，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。
6. 向吸附柱中加入500μl Solution W1（使用前检查是否已加入无水乙醇），12,000rpm离心20s，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。
7. 重复步骤7。
8. 12,000rpm离心2min，倒掉收集管中废液。将吸附柱置于室温数分钟，彻底晾干。

**注意：这一步目的是将吸附柱中残余乙醇去除，乙醇残留会影响后续酶促反应（酶切、PCR等）。**

1. 将吸附柱置于一个新的RNase-Free离心管中，向吸附柱的中间部位加入30-50μl RNase-Free Water，室温放置1min，12,000rpm离心1min，收集RNA溶液，-70℃保存RNA，防止降解。

**注意：1）RNase-Free Water体积不应小于30 μl，体积过小影响回收率。2）如果要提高RNA的产量，可用30-50μl新的RNase-Free Water重复步骤10。3）如果要提高RNA浓度，可将得到的溶液重新加入到吸附柱中，重复步骤10。**

**储存条件**

Meszol Reagent 2-8℃避光保存，其他组分室温（15-30℃）。

**仅供科学研究，不得用于临床治疗**