

Technical literature is available at: www.mesgenbio.com. E-mail MesGen Technical Services if you have questions on use of this system: tech@mesgenbio.com

MESGEN
INNOVATION BIOTECHNOLOGY

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 5×10^6 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°C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°C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°C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 1×10^7 。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 5×10^6 - 1×10^7 动物、植物和酵母细胞或每 10^7 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°C ，12,000 rpm ($\sim 13,400 \times g$) 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。
2. 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。
 3. 以每 1ml Meszol Reagent 加入 200 μl 氯仿的比例加入氯仿，盖好管盖，剧烈振荡 15s，室温放置 2min。
 4. 4°C 12,000rpm ($\sim 13,400 \times g$) 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。
 5. 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。
 6. 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。
 7. 向吸附柱中加入 500 μl 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。
 8. 重复步骤 7。
 9. 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)。
 10. 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 30-50 μl RNase-Free Water，室温放置 1min，12,000rpm 离心 1min，收集 RNA 溶液， -70°C 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 30-50 μl 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 $2-8^\circ\text{C}$ 避光保存，其他组分室温 ($15-30^\circ\text{C}$)。

仅供科学研究，不得用于临床治疗