



## Animal Total RNA Isolation Kit

Cat.No.RE-03011/03014

For purification of total RNA from animal tissues and cells

Animal Tissues  $\leq 20\text{mg}$

Animal Cells  $\leq 5 \times 10^6$

For research use only

Store at room temperature



## 目 录

产品介绍	3
产品特点	3
RNA 的应用	4
RNA 片段的储存	4
产品质量控制	4
试剂盒内容	5
产品信息	5
储存条件	5
试剂盒组分信息	6
RNA-Only Column 特性	6
DNA-Cleaning Column 特性	6
RNA 提取得率与纯度	7
RNA 完整性	7
注意事项	8
操作前准备事项	9
实验材料和设备	9
自备试剂	9
安全性	9
操作指南	10
材料取用说明	10
预防样本间交叉污染	10
RNA 污染预防	10
● 操作步骤	12
RNA 浓度及纯度检测	14
DNA 污染及检测	14
快速操作示意图	15
问题分析指南	16

## 产品介绍

该试剂盒采用本公司研制的离心柱和配方，可以从各种动物组织中高效率的提取得到高纯度高质量的总 RNA。提供高效的 DNA-Cleaning Column，能轻松的让上清液和组织裂解物分离并吸附除去基因组 DNA，操作简便、省时；RNA-Only Column 能高效的结合 RNA，搭配独特的配方，可以同时处理大量样品。

全系列 RNase-Free，使得提取的 RNA 无降解；Buffer RW1、Buffer RW2 缓冲液洗涤体系，使得获得的 RNA 无蛋白、无 DNA、无离子、无有机化合物污染。

## 产品特点

- ◆ 全程常温(15-25°C)操作，**无需冰浴和低温离心**。
- ◆ 整套试剂盒全 RNase-Free，无需担心 RNA 降解。
- ◆ DNA-Cleaning Column 特异结合 DNA，使得试剂盒无需额外添加 DNase 即可去除基因组 DNA 污染。
- ◆ RNA 得率高：RNA-Only Column 和独特配方搭配能高效的纯化 RNA。
- ◆ 速度快：操作简便，可在 30 分钟内完成
- ◆ 安全：无需有机试剂抽提。
- ◆ 质量高：提取得到的 RNA 片段纯度高，没有蛋白和其他杂质污染，能够满足后续各种实验。

## 试剂盒应用

适用于多种新鲜或冻存的动物组织或培养细胞总 RNA 提取纯化。

## RNA 的应用

Animal Total RNA Isolation Kit 提取得到的总 RNA 可用于各种下游分子实验，例如：cDNA 合成、RT-PCR、Real Time PCR、Northern Blot、Dot Blot、体外翻译、芯片分析、PolyA 筛选、分子克隆和 RNase 保护分析等。

## RNA 片段的储存

建议使用 RNase-Free ddH<sub>2</sub>O 洗脱 RNA，即时用于下游实验或储存于-80°C。在-80°C 存储条件下，RNA 可保存一年。

## 产品质量控制

按照凡晶生物试剂盒质量检测体系标准(FOREGENE's Total Quality Management System)，每一批次的动物组织/细胞总 RNA 提取试剂盒都严格进行多次测试，确保每一批次试剂盒质量的可靠性和稳定性。

## 试剂盒内容

Animal Total RNA Isolation Kit 动物组织/细胞总 RNA 提取试剂盒		
试剂盒组成	RE-03011	RE-03014
	50 T	200 T
Buffer RL1*	25 mL	100 mL
Buffer RL2	15 mL	60 mL
Buffer RW1*	25 mL	100 mL
Buffer RW2	24 mL	96 mL
RNase-Free ddH <sub>2</sub> O	10 mL	40 mL
RNA-only Column	50 套	200 套
DNA-Cleaning Column	50 套	200 套
说明书	1 份	1 份

\*: Buffer RL1、Buffer RW1中含有具刺激性的离液盐, 操作时请注意戴上手套和进行相关防护措施。

## 产品信息

型号	离心柱型	纯化组件	Foregene 离心柱、试剂
通量	1-24 个样品	制备时间	~30 min (24 个样品)
离心机	台式离心机	组织裂解物分离	离心分离
纯化柱 RNA 承载量	160 µg	离心柱液体盛装量	800 µL
洗脱体积	50-200 µL	组织样本处理量	组织: 10-20 mg、细胞: (1-5) × 10 <sup>6</sup>

## 储存条件

本试剂盒在常温(15–25°C)干燥条件下, 可保存 24 个月; 如需保存更长时间可置于 2–8°C。Buffer RL1 在加入β-巯基乙醇(可选择不加)后可在 4°C放置 1 个月(建议现做现添加)。

注意: 若低温保存, 溶液容易产生沉淀。在使用前务必将试剂盒内的溶液在室温中放置一段时间, 必要时可在 37°C水浴中预热 10 分钟, 以溶解沉淀, 混匀后再使用。

## 试剂盒组分信息

- ◆ Buffer RL1: 提供动物组织研磨裂解所需的环境。
- ◆ Buffer RL2: 提供 RNA 的特异上柱环境。
- ◆ Buffer RW1: 去除 RNA 中的蛋白质、DNA 等杂质。
- ◆ Buffer RW2: 去除 RNA 中残留的盐离子。
- ◆ RNase-Free ddH<sub>2</sub>O: 洗脱纯化柱膜上的总 RNA。
- ◆ DNA-Cleaning Column: 特异吸附组织裂解产物中的 DNA, 并过滤除去裂解产物中的固体杂质。
- ◆ RNA-Only Column: 特异吸附上通过 DNA-Cleaning Column 滤液中的总 RNA。

## DNA-Cleaning Column 特性

原理( Mechanism)	特异吸附DNA
功能(Function)	去除DNA污染, 过滤分离裂解物
裂解物最大载量体积(Maximum loading volume)	800 $\mu$ L

## RNA-Only Column 特性

RNA最大结合能力(Maximum binding capacity)	160 $\mu$ g
上清最大载量体积(Maximum loading volume)	800 $\mu$ L
RNA片段大小分布(RNA size distribution)	RNA $\geq$ 200 nt
最小洗脱体积(Minimum elution volume) 1*	50 $\mu$ L
最佳样本选取(Selection of samples)	动物组织或动物细胞
样本最大初始量(Maximum amount of starting material) 2*	20 mg动物组织或 $5 \times 10^6$ 细胞

1\*: 50  $\mu$ L 的最小洗脱体系是在兼顾 RNA 回收率及浓度给出的比较合理的建议体积。如果为了提高 RNA 的产量, 可以适当增加洗脱液体积; 如果为了提高纯化得到的 RNA 浓度, 在牺牲一部分 RNA 得率的前提下, 适当的减少洗脱液体积, 比如采用 30  $\mu$ L 的洗脱体系, 以期得到更高浓度的 RNA。

2\*: 更大的样本量, 请使用多个 RNA-Only Column 进行 RNA 纯化。

## RNA 提取得率与纯度

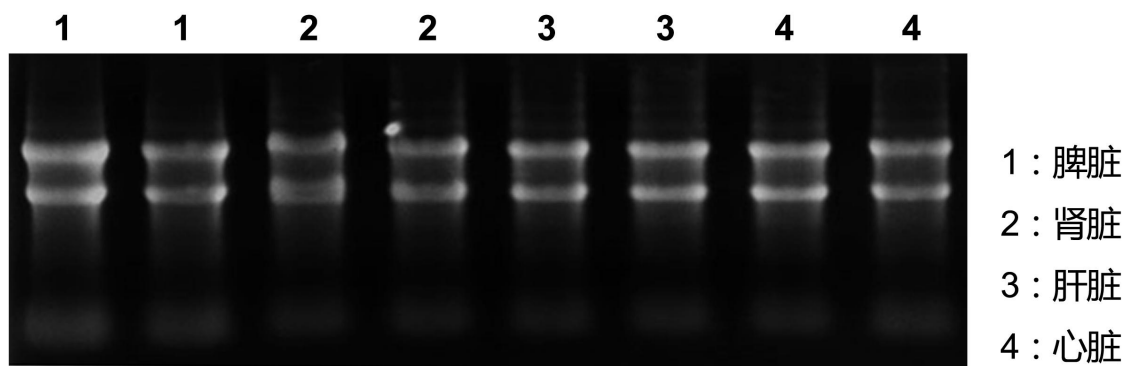
使用 Animal Total RNA Isolation Kit 纯化得到的 RNA，其产量与组织初始量、组织新鲜程度、组织保存时间以及操作相关。以下是使用该试剂盒提取 RNA，各种组织其 RNA 得率与纯度，实际操作中，可能与该数据有些许出入。

组织类型	总 RNA 产量( $\mu\text{g}$ )	OD260/280	OD260/230
心	5-20 $\mu\text{g}/10\text{mg}$ 组织	1.8-2.1	1.8-2.1
肝	40-60 $\mu\text{g}/10\text{mg}$ 组织	1.8-2.1	1.8-2.1
脾	30-50 $\mu\text{g}/10\text{mg}$ 组织	1.8-2.1	1.8-2.1
肾	25-35 $\mu\text{g}/10\text{mg}$ 组织	1.8-2.1	1.7-2.0
脑	3-10 $\mu\text{g}/10\text{mg}$ 组织	1.8-2.1	1.5-1.7
细胞	10-30 $\mu\text{g}/10^6$ 细胞	1.8-2.1	1.8-2.1

## RNA 完整性

RNA 的质量可以通过变性琼脂糖凝胶电泳，溴化乙锭染色之后在紫外光下分析。在凝胶上，核糖体 RNA 的带型应明显并清晰。如果任何泳道的核糖体 RNA 或者特定的样品条带显示不明显、不清晰，弥散成小片段 RNA 或者消失，则可能是样本在处理之前已经发生 RNA 降解或者在纯化过程中造成了 RNA 降解。

下图为凡晶生物动物组织总 RNA 提取试剂盒处理动物组织样本，获得的 RNA 电泳图。



Animal Total RNA Isolation Kit 处理 20mg 小鼠新鲜样本，取 5% 纯化的总 RNA 1% 琼脂糖凝胶电泳。

**注意事项：**（请务必在使用试剂盒前仔细阅读注意事项）

- ◆ 所有实验步骤均在常温(15-25°C)进行(包括离心)，**切勿使用冰浴和低温(4°C)离心。**
- ◆ 样品应避免反复冻融，否则会导致提取的 RNA 降解且提取量也会下降。
- ◆ 如提取的 RNA 用于克隆全长 cDNA，每 1 mL Buffer RL1 加入 10  $\mu$ L  $\beta$ -巯基乙醇，**建议现配现用**，Buffer RL1 在加入 $\beta$ -巯基乙醇后可在 4°C放置 1 个月。如提取的 RNA 仅用于 qPCR 或测序分析等其他下游操作，可以选择不加 $\beta$ -巯基乙醇，不会影响提取效果。
- ◆ 试剂盒使用前，请在 Buffer RL2 中添无水乙醇，加入量请参照试剂瓶上标签。不同规格的试剂盒无水乙醇的添加量见下表：

产品规格	无水乙醇添加量
RE-03011	30 mL
RE-03014	120 mL

- ◆ 试剂盒使用前，请在 Buffer RW2 中添加无水乙醇，加入量请参照试剂瓶上标签。不同规格的试剂盒无水乙醇的添加量见下表：

产品规格	无水乙醇添加量
RE-03011	60 mL
RE-03014	240 mL

- ◆ RNA 产率和质量与组织样本用量和洗脱体积有关，建议每 500  $\mu$ L Buffer RL1 使用组织量 10-20 mg。
- ◆ 洗脱体积：洗脱液体积不应少于 50  $\mu$ L，否则会影响 RNA 产量。
- ◆ 请检查试剂盒中的 Buffer RL1 和 Buffer RW1 是否有晶体析出现象，若低温存放后有晶体析出，可将 Buffer 放置于室温或 37°C一段时间，将晶体溶解后混匀再使用。



## 操作前准备事项

使用本试剂盒前, 请务必仔细阅读说明书。动物组织/细胞总 RNA 提取试剂盒操作简单、方便、快速, 说明书提供了整个试剂盒的正确使用方法。请在使用前准备好必要的实验材料和设备。

## 实验材料和设备

- ◆ 10-20 mg 新鲜动物组织、 $1-5 \times 10^6$  个培养动物细胞。
- ◆ 玻璃匀浆器或电动匀浆器。
- ◆ 台式离心机( $\geq 13,400 \times g$ )、移液器等。

## 自备试剂

- ◆ 无水乙醇
- ◆  $\beta$ -巯基乙醇(选用)

## 安全性

- ◆ 本产品仅供科研使用, 请勿用于医药、临床医疗、食品及化妆品等用途。
- ◆ 在使用该试剂盒时, 请穿戴实验服、一次性乳胶手套、一次性口罩等以保护自身; 并最大程度上避免人为引入的 RNase 污染。
- ◆ Buffer RL1 含有离液盐: 变性剂, 刺激性。
- ◆ Buffer RL2 含无水乙醇: 易燃。
- ◆ Buffer RW1 含有离液盐: 变性剂, 刺激性。
- ◆ Buffer RW2 含无水乙醇: 易燃。

## 操作指南

请根据自己的样本材料选择相应的裂解方式进行组织裂解操作。**试剂盒全程常温(15-25°C)操作，切勿冰浴和低温离心。**

### 样本选取和保存

样本的选择及保存很大程度上决定着 RNA 的产量。应尽可能的采用新鲜的动物组织或细胞进行 RNA 提取。

当样本采集之后，RNA 很快会发生降解；如果采集的样本来不及提取 RNA，请尽快妥善保存。我们建议新采集的样本应立即放入液氮中速冻，之后长期保存于-80°C并避免样本的反复冻融；或者将样本立即浸泡在 RNA 稳定剂 RNAlater 溶液中。为了避免 RNA 的降解，样本的采集与保存应尽可能迅速的进行。

### 样本初始用量

正确的样本的初始取用量对于 RNA 的最佳产量及纯度十分必要，样本的最大取用量与下面因素相关：

- ❖ 样本本身的类型以及样本 RNA 的丰度；
- ❖ Buffer RL1 的用量决定了样本的有效裂解；
- ❖ RNA-Only Column 的 RNA 结合能力。

根据上述因素，参照 10 mg 样本 RNA 得率表，我们推荐样本的初始用量不宜超过 20 mg。如果样本用量过多，Buffer RL1 对组织裂解不完全，导致纯化获得的 RNA 纯度不高；同时可能会超过 RNA-Only Column 的最大承载量而浪费珍贵样本。

### 组织破碎

使用研钵在 Buffer RL1 条件下，利用机械剪切力快速破碎动物组织细胞。这一步操作一定要迅速，一旦细胞被破坏，RNA 会快速降解。

样本破碎要彻底，以完全破坏细胞膜及细胞器以释放 RNA，否则将影响 RNA 的产量以及在下步进行裂解物分离操作(见操作步骤第四步骤)容易发生离心柱堵塞。

## 材料取用说明

- ◆ 动物组织：单次处理，用量请勿超过 20 mg。
- ◆ 培养细胞：单次处理，用量请勿超过  $5 \times 10^6$ 。

## 预防样本间交叉污染

为了避免样本间交叉污染，每次取样后都需要将取样器材的刃口或与样本直接接触的部位浸入 2%次氯酸钠溶液中，反复洗刷数次进行清洗，然后用干净的纸巾擦干残余液体后再进行使用。为了试验方便，也可准备多个取样器材，在使用完后进行统一清洗，确保每一单独样本均使用的是无污染的取样器材。

## RNase 污染预防

- ◆ 人体接触是重要的 RNase 污染源，且部分试剂中可能带有刺激性气味，请在操作过程中经常更换手套，并佩戴一次性口罩。
- ◆ 请使用无 RNase 的枪头和其他塑料制品。
- ◆ RNA 在 Buffer RL1 中时不会被 RNase 污染，但提取后继续处理过程中应使用不含 RNase 的塑料和玻璃器皿。玻璃器皿可在 150°C 烘烤 4 小时，塑料制品可在 0.5 M NaOH 中浸泡 10 分钟，然后用水彻底清洗，高压灭菌，即可去除 RNase。
- ◆ 配制溶液应使用无 RNase 的水(将水加入处理过不含 RNase 的玻璃瓶中，加入 DEPC 至终浓度 0.01%(v/v)，混匀后放置过夜，高压灭菌)。

## 基因组 DNA 污染及清除

动物总 RNA 提取试剂盒主要是为了从动物组织或培养细胞中获得可观的 RNA，并且独特的 DNA-Cleaning Column 可有效的除去体系中大部分 DNA 污染，纯化获得的 RNA 通常无需使用 DNase 处理即可有用于下游操作。某些 RNA 分析实验对痕量 DNA 十分敏感，比如：荧光定量 RT-PCR 分析低丰度基因，这时可以选用合适的 DNase 进一步清除 DNA 污染。

## 操作步骤(全程常温(15-25°C)操作, 切勿冰浴和低温离心)

使用前请先在 Buffer RL2 和 Buffer RW2 中加入无水乙醇, 加入体积请参照瓶上的标签。  
如提取的 RNA 用于克隆全长 cDNA, 每 1 mL Buffer RL1 加入 10  $\mu$ L  $\beta$ -巯基乙醇。

### 1. 根据组织来源按以下说明进行组织或细胞裂解。

#### 1a 动物组织:

匀浆处理: 取新鲜组织每 **10-20 mg** 加入 **500  $\mu$ L Buffer RL1**, 用玻璃匀浆器或电动匀浆器将组织研磨均匀。

注意: 组织量不要超过 20 mg, 否则可能会造成 DNA-Cleaning Column 发生堵柱现象, 导致 RNA 的质量下降。

#### 1b 培养细胞:

1) 贴壁细胞: 不须消化, 可直接用 Buffer RL1 进行消化、裂解; 或者离心收集细胞后加入 Buffer RL1, **1-5  $\times 10^6$  细胞**加入 **500  $\mu$ L Buffer RL1**, 用移液器反复吹打混匀(直到看不到细胞团为止)。

2) 悬浮细胞: 直接离心收集细胞, 加入 Buffer RL1, **1-5  $\times 10^6$  细胞**加入 **500  $\mu$ L Buffer RL1**, 用移液器反复吹打混匀(直到看不到细胞团为止)。

注意: RNA 在 Buffer RL1 不会受到 RNase 的污染, 如果组织或细胞在加入 Buffer RL1 裂解后不即时使用, 在室温条件下可保存约 24 h, 在 4°C 中保存约 1 周, 更长时间保存请存放于 -80°C, 使用时将溶液在室温或 37°C 溶解即可。

### 2. 将研磨均匀的匀浆液转移至 DNA-Cleaning Column 中(DNA-Cleaning Column 放入收集管中), 12,000 rpm (~13,400 $\times$ g) 离心 2 min。移除 DNA-Cleaning Column, 保留收集管内上清液。

注意: 若组织使用量大于 20 mg 或组织研磨后块状碎片太多, 先将匀浆液移至 1.5 mL 离心管中, 12,000 rpm (~13,400  $\times$ g) 离心 5 min, 再将上清液转移至过滤柱中, 进行步骤 2 操作。如果 DNA-Cleaning Column 收集管底部有沉淀产生, 请将上清液转移至干净离心管中再进行步骤 3, 切勿将其吸入上清液中。

### 3. 向上述上清液(体积应约为 500 $\mu$ L)中加入 **1.6 倍体积 Buffer RL2(使用前请确认已按照说明加入无水乙醇)**, 轻柔混匀。

注意: Buffer RL2 加入量请按照实际操作过程中上清液的体积进行比例换算加入。例如: 500  $\mu$ L 上清液中加入 800  $\mu$ L Buffer RL2(已加入无水乙醇)。如果混合液出现浑浊或絮状沉淀, 请直接进行步骤 4 即可。

4. 将 700  $\mu\text{L}$  混合液转移至 RNA-only Column 中(纯化柱放入收集管中), 12,000 rpm (~13,400  $\times g$ )离心 1 min, 弃掉收集管中的废液。  
注意: 如果混合液中出现絮状沉淀, 请将沉淀一并转移至纯化柱中。
5. 将纯化柱放回收集管中, 将剩余混合液全部加入纯化柱中, 12,000 rpm(~13,400  $\times g$ ), 离心 1 min, 弃掉收集管中的废液。
6. 向纯化柱中加入 **500  $\mu\text{L}$  Buffer RW1**, 12,000 rpm (~13,400  $\times g$ )离心 1 min, 弃掉收集管中的废液。
7. 向纯化柱中加入 **700  $\mu\text{L}$  Buffer RW2(使用前请确认已按照说明加入无水乙醇)**, 12,000 rpm (~13,400  $\times g$ )离心 1 min, 弃掉收集管中的废液。
8. 重复步骤 7。
9. 将纯化柱放回收集管中, 12,000 rpm (~13,400  $\times g$ )空管离心 2 min, 去掉离心柱中残余的 Buffer RW2。
10. 将纯化柱转移至新的离心管中, 向纯化柱的膜中央滴加 50-200  $\mu\text{L}$  已于 65°C预热的 RNase-Free ddH<sub>2</sub>O(切勿将洗脱液添加到压圈上, 否则会损失较大体积的洗脱液), 室温放置 2 min。12,000 rpm (~13,400  $\times g$ )离心 1 min 收集 RNA 溶液。  
注意: RNase-Free ddH<sub>2</sub>O 加入体积不应低于 50  $\mu\text{L}$ , 体积过小会影响洗脱效率。为提高 RNA 产量, 可将离心得到的 RNA 溶液重新加至纯化柱中, 重复步骤 10。得到的 RNA 溶液可直接用于下游实验或置于-80°C保存。由于本试剂盒对 RNA 二级结构保护较好, 建议凝胶电泳之前, 先将得到的 RNA 溶液置于 72°C变性处理 5-10 min。

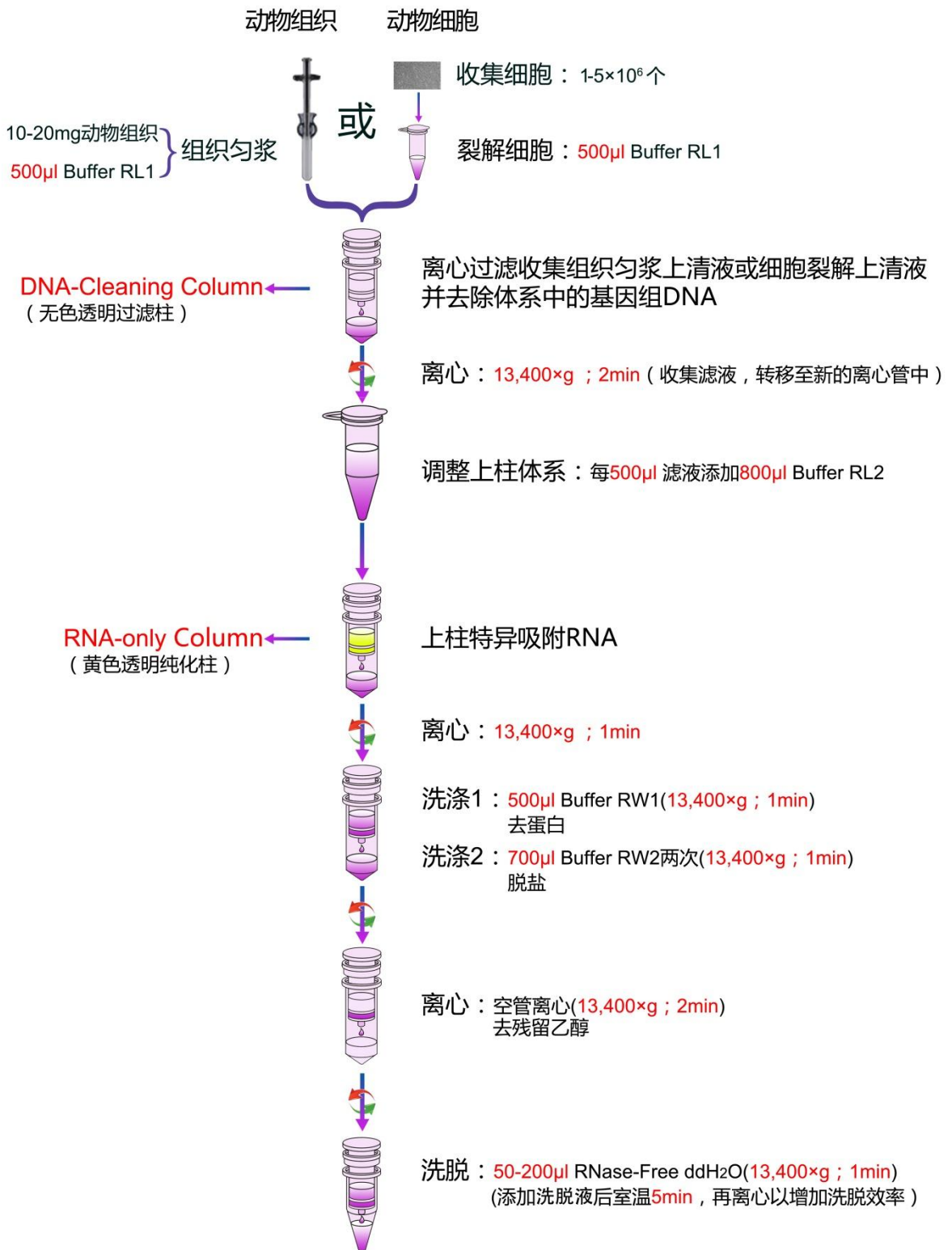
## RNA 浓度及纯度检测

- ◆ 得到的 RNA 的质量与操作过程中的多种因素有关。RNA 可用琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计检测浓度与纯度。由于本试剂盒对 RNA 二级结构保护较好，建议凝胶电泳之前，先将得到的 RNA 溶液置于 72°C 变性处理 5-10 min。
- ◆ 用分光光度计测定 RNA 浓度，OD260 值为 1 相当于大约 40 µg/mL 的 RNA。
- ◆ RNA 的 OD260/280 比值通常用作核酸纯度的衡量指标，一般情况下，纯 RNA 的 OD260/280 比值在 1.8-2.1。OD260/280 比值会受测定所用溶液的 pH 值的影响，例如，纯化 RNA 在 pH 7.5 的 10 mM Tris 缓冲液中 OD260/280 读数在 1.9-2.1 之间，而在中性的水溶液中比值会变低，可能只有 1.8-2.0，这并不意味着 RNA 的质量变差。

## DNA 污染及检测

- ◆ 目前没有有效的纯化方法能保证纯化得到的 RNA 中完全没有 DNA 的污染，即便在凝胶电泳时检测不到 DNA 条带，也可能存在微量的 DNA。而 RNA 提取试剂盒能除去 RNA 中的绝大部分 DNA，然而微量的 DNA 依然可能存在于样品中，它的存在量与样本的用量及其本身性质有关。
- ◆ 对于纯化得到的 RNA 中的微量 DNA 的检测，可以通过不经逆转录进行实时荧光定量 PCR 检测。我们建议，可以设计引物，其退火匹配区域位于基因组 DNA 的内含子中。如果 RNA 中不含有任何基因组 DNA，基于这对引物的 PCR 是不会扩增出相应的 PCR 产物。

## 快速操作示意图



## 问题分析指南

以下针对动物组织/细胞 RNA 提取中可能遇到的问题进行分析, 希望能对您的实验有所帮助。另外, 对于在操作说明和问题分析以外的其他实验或技术上的问题, 我们设有专门的技术支持帮助您。如有任何需要可联系我们: 028-83360257 或 E-mail: Tech@foregene.com。

### 提取不到 RNA 或者 RNA 产量低

通常会有多种因素影响回收效率, 比如: 组织样本 RNA 含量、操作方法、洗脱体积等。

1. 操作过程中进行了冰浴或低温(4°C)离心。  
建议: 全程常温(15-25°C)操作, 切勿冰浴和低温离心。
2. 样本保存不当或样本保存时间过久。  
建议: 样本保存于-80°C或冻存于液氮中, 并避免反复冻融使用; 尽量采用新鲜组织或培养的细胞进行 RNA 提取操作。
3. 样本裂解不充分。  
建议: 在组织匀浆时, 请保证组织充分匀浆, 组织细胞都被充分裂解释放 RNA。
4. 洗脱液添加不正确。  
建议: 确认 RNase-Free ddH<sub>2</sub>O 滴加到了纯化柱膜中间位置。
5. Buffer RL2 或 Buffer RW2 中没有添加正确体积的无水乙醇。  
建议: 请按照说明书, 在试剂盒使用前, Buffer RL2 和 Buffer RW2 中添加正确体积的无水乙醇并混匀。
6. 组织样本用量不合适。  
建议: 每 500 μL Buffer RL1 使用组织量 10-20 mg 或(1-5) × 10<sup>6</sup> 细胞, 组织使用过多会导致 RNA 提取量降低。
7. 洗脱体积不合适或洗脱不彻底。  
建议: 纯化柱的洗脱液体积为 50-200 μL; 若洗脱效果并不理想, 建议在加入预热的 RNase-Free ddH<sub>2</sub>O 后, 延长室温放置的时间, 例如放置 5-10 min。
8. 纯化柱在 Buffer RW2 洗涤之后有乙醇残留。  
建议: 如果在 Buffer RW2 洗涤, 空管离心 1 min 后还有乙醇残留, 可以将空管离心操作的时间增加至 2 min, 或将纯化柱置于室温 5 min, 以充分除去残留乙醇。



## 纯化获得的 RNA 有降解

纯化得到的 RNA 的质量和样本的保存、RNase 污染、操作等因素有关。

### 1. 组织样本没有及时保存。

建议：组织样本或者细胞在收集后若不及时使用，请立即低温保存于-80℃或者液氮中。提取 RNA 请尽量使用新近采取的组织或细胞样本。

### 2. 组织样本反复冻融。

建议：组织样本保存时，最好切成小块保存，使用时取出其中一块即可，避免样本的反复冻融导致 RNA 的降解。

### 3. 操作间有 RNase 引入或没有佩戴一次性手套、口罩等。

建议：RNA 提取实验最好在单独的 RNA 操作间进行，并在实验前清理好实验桌，实验时佩戴一次性手套、口罩，最大程度上避免 RNase 引入导致的 RNA 降解。

### 4. 试剂在使用过程中被 RNase 污染。

建议：更换新的 Animal Total RNA Isolation Kit 进行相关实验。

### 5. RNA 操作时所用的离心管、枪头等有 RNase 污染。

建议：确认 RNA 提取时所用到的离心管、枪头、移液器等都是 RNase-Free。

## 纯化获得的 RNA 影响下游实验

经纯化柱纯化的 RNA，如果盐离子、蛋白质含量过多会影响下游实验，比如：逆转录、Northern Blot 等。

### 1. 洗脱后的 RNA 有盐离子残留。

建议：确认 Buffer RW2 中添加了正确体积的乙醇，并按操作说明的离心转速进行 2 次纯化柱洗涤；如果还有盐离子残留，可在纯化柱加入 Buffer RW2 后，室温放置 5min，再进行离心操作，以最大程度上去除盐离子污染。

### 2. 洗脱后的 RNA 有乙醇残留。

建议：确认 Buffer RW2 洗涤后，按操作说明的离心转速进行空管离心操作；如果还有乙醇残留，可以将空管离心操作的时间增加至 2 min，或者在空管离心后在室温放置 5 min，以最大程度上去除乙醇残留。

中国·凡晶      World's Foregene

成都凡晶生物技术有限公司

电话：028-83360257, 028-83361257

E-mail: [info@foregene.com](mailto:info@foregene.com)

[Http://www.foregene.com](http://www.foregene.com)

