# M5 EASYspin Plus 动物骨组织 RNA 快速提取试剂盒使用说明书（升级版，Version2）

| 产品名称 | 单位 | 货号 |
|---|---|---|
| M5 EASYspin Plus 动物骨组织 RNA 快速提取试剂盒 | 50T | MF159-01 |

**【升级说明】：简化了组分，减少了步骤，还能对更复杂骨组织有较好的提取效果。**

**【储存条件】** 室温保存

**【产品简介】**

骨组织坚硬、骨细胞密度低、而且外周基质含有大量黏蛋白（蛋白多糖）和 RNA 难以分离，无法用传统 Trizol 法进行高质量提取。本试剂盒采用独有的不含苯酚/氯仿配方的裂解液，并添加多种成分去除骨组织蛋白多糖，从动物大腿骨、趾骨、尾骨、软骨等骨组织中快速获得高纯度 RNA。得到的 RNA 可用于反转录 PCR、荧光定量 PCR 等实验。

**【产品特点】**

1. 完全不使用有毒的苯酚，氯仿等试剂。
2. 简捷，单个样品操作一般可在 35 分钟内完成，最简单快速的骨组织 RNA 提取试剂盒。
3. 适应性广泛，可以提取各种骨组织包括矿化骨组织。

**【产品组份】**

| | 50T | 注意事项 |
|---|---|---|
| 裂解液 RLT bone | 50 ml | 室温密闭干燥保存 |
| 去蛋白液 RW1 | 40 ml | 室温密闭干燥保存 |
| 漂洗液 RW | 10ml | **初次使用前请按瓶标说明加入指定量的无水乙醇** |
| EB 洗脱液 | 10ml | 室温密闭干燥保存 |
| RNase-Free 吸附套管(RA) | 50 套 | 室温密闭干燥保存 |

**【注意事项】**

1. 所有的离心步骤均可在室温完成（4℃离心也可以），使用转速可以达到 13,000 rpm 的传统台式离心机，如 Eppendorf 5415C 或者类似离心机。

2. 需要自备乙醇，异丙醇，研钵或者其它合适的破碎骨组织装置。

3. 裂解液 RLT bone 和去蛋白液 RW1 中含有刺激性化合物，操作时戴乳胶手套，避免沾染皮肤，眼睛和衣服。若沾染皮肤、眼睛时，要用大量清水或者生理盐水冲洗。

4. 关于 DNA 的微量残留:

一般说来任何总 RNA 提取试剂在提取过程中无法完全避免 DNA 的微量残留（DNase 消化也无法做到 100%无残留），个别特殊情况如 DNA 含量过于丰富造成残留或者要进行严格的 mRNA 表达量分析荧光定量 PCR，我们建议在进行模板和引物的选择时：

1) 选用跨内含子的引物，以穿过 mRNA 中的连接区，这样 DNA 就不能作为模板参与扩增反应。

2) 选择基因组 DNA 和 cDNA 上扩增的产物大小不一样的引物对。

3) 将 RNA 用带 gDNA 清除剂的反转录试剂盒（比如聚合美 MF166-plus）进行反转录。

**【操作步骤】**

<实验前请先阅读注意事项，第一次使用前请先在**漂洗液 RW 瓶**中加入指定量的无水乙醇!>

1、将骨组织转移至用液氮预冷的研钵中，用研杵研磨组织，其间不断加入液氮，直至研磨成粉末状。

2、将研磨好的组织加入到 1.5ml EP 管中加入 1ml 的 RLT bone 裂解液中，立即手腕用力上下颠倒至分散均匀，无块状物，室温静置 2min，使核酸蛋白复合物完全分离。

3、 13,000rpm 离心 3min，吸取 500ul 上清至新的 1.5EP 管中。

**注意：若 RNA 需求量比较大时，可以吸取全部上清液。注意不要吸入沉淀物，同时，要等比例增加异丙醇的用量。**

4、 向上述上清液中加入 300ul 异丙醇，手腕轻柔上下颠倒数次，将混和物全部倒入吸附柱中，13,000rpm 离心 30s，弃去外套管中液体。

5、 向内套管中加入 500ul 去蛋白液 RW1，13,000 rpm 离心 30s，弃去外套管中液体。

6、 向内套管中加入 500ul 漂洗液 RW (**确认已加入无水乙醇!!** )，13,000 rpm 离心 30s。再重复此过程一次。

7、 取出内套管，弃去外套管中液体，仍然套回内套管，不加洗液，13,000 rpm 离心 2 min。

8、 将内套管移入新的 EP 管中，室温静置 1~2 min，使残留乙醇挥发，在膜中央加入 EB 洗脱液 30~50 μl，室温静置 1 min，13,000 rpm 离心 1 min，获得总 RNA。重复步骤 8，进行二次洗脱，可以增加核酸产量。

Mei5bio

【备注】
本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。