

## 一、试剂盒组成、储存、稳定性

试剂盒组成	保存	20次 (RP1201)	50次 (RP1202)
裂解液 RL	4℃避光	25 ml	55 ml
去蛋白液 RE	室温	15ml	30ml
漂洗液 RW	4℃ (一个月) -20℃ (长期)	6 ml	15 ml
		<b>第一次使用前按说明加指定量乙醇</b>	
RNase-free H <sub>2</sub> O	室温	5 ml	10ml
70%乙醇	室温	4ml RNase-free H <sub>2</sub> O	9ml RNase-free H <sub>2</sub> O
		<b>第一次使用前按说明加指定量乙醇</b>	
Dnase (仅 II 型提供)	-20	40ul	100ul
10× Buffer (仅 II 型提供)	-20	60ul	150ul
RNase-free 吸附柱 RA	室温	20 个	50 个
收集管 (2ml)	室温	20 个	50 个

本试剂盒在室温储存 12 个月不影响使用效果。

### 注意事项

- 第一次使用前请先在漂洗液 RW 瓶和 70%乙醇瓶中加入指定量乙醇，加入后请及时打钩标记已加入乙醇，以免多次加入！
- 所有的溶液应该是澄清的，如果环境温度低时溶液可能形成沉淀，此时不应该直接使用，可在 37℃水浴加热几分钟，即可恢复澄清。
- 不合适的储存于低温（4℃或者-20℃）会造成溶液沉淀，影响使用效果，因此运输和储存均在室温下（15℃-25℃）进行。裂解液 RL 可以常温运输，收到后 **4℃避光保存**。
- 避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、PH 值变化，各溶液使用后应及时盖紧盖子。

## 六、疑难解答 (Trouble shooting)

出现的问题	可能的原因	建议解决方法
RNA产量低	样品裂解或者匀浆不彻底	液氮研磨的时候尽量研磨完全，加入裂解液 RL 后剧烈震荡或者用枪头吹打帮助裂解。匀浆步骤可以提高产量。新鲜组织或者植物组织可以不需液氮，SK 在干净研钵内加入适量裂解液 RL 直接研磨。
	使用的样品或者裂解物在 -20℃或者 -70℃存放太久	存放时间过长可能降低 RNA 产量，应尽快处理样品或者裂解物。
	组织本身含 RNA 少	不同类型的组织和细胞含有不同量的 RNA,对于含量少的组织应该适当提高起始处理量。
	超过了吸附柱的最大吸附能力	同一个样品使用多个吸附柱，然后合并得到 RNA。
	去蛋白液 RE 和漂洗液 RW 内忘记加乙醇	<b>第一次实验时，漂洗液 RW 瓶和 70%乙醇瓶中加入指定量无水乙醇。</b>
OD <sub>260</sub> /OD <sub>280</sub> 吸光度比值 < 1.6	分光光度计检测吸光度时，RNA 样品不是溶于 TE，而是溶于水。低离子浓度和低 pH 条件下，OD <sub>280</sub> 值会较高，造成比值低。	检测时用 TE 稀释样品

## 接前表

出现的问题	可能的原因	建议解决方法
	污染了蛋白或者苯酚	做步骤 5 吸取取上清水相的时候小心不要吸取到中间相和下层有机相，确保做了步骤 8。
基因组DNA污染	起始样品量超出了裂解液 RL 的处理范围	选择合适的起始处理量。
	样品中含有有机溶剂（如乙醇，DMSO 等），强缓冲液或碱性溶液。	避免这些可以改变裂解液 RL 性质或者 PH 值的物质。
	吸取上清时吸入了中间相	做步骤 5 吸取取上清水相的时候小心不要吸取到中间相。
RNA降解，完整性不佳	RNA 提取所用各种物品和试剂没有灭活 RNA 酶	按照注意事项准备 RNA 提取的各种用品。
	组织取出后没有马上处理或冷冻，提取前已经降解	组织应该尽量立刻处理，不能及时处理的应该尽快保存于液氮或者 -70℃。
	提取的 RNA 样品没有保存在 -20℃ 或 -70℃ 低温	尽可能的将 RNA 保存在 -70℃ 的低温。
	样品提取过程中降解	提取动作应该尽可能的快，离心应该低温进行，取用 RNA 时尽量冰上进行。
下游的RT-PCR实验不成功	忘记做步骤 11，或者将吸附柱取出时下端碰到了收集管里面的漂洗液，造成洗脱下来的 RNA 含有乙醇，乙醇抑制了逆转录反应	确保做了步骤 11，然后小心取出吸附柱，可以在空气中晾几分钟，让残留乙醇挥发。

## 目 录

一、试剂盒组成、储存、稳定性.....	1
二、原理简介.....	2
三、试剂盒特点.....	2
四、注意事项.....	2
五、操作步骤.....	4
六、疑难解答.....	6