

一、试剂盒组成、储存、稳定性

试剂盒组成	保存	50 次 (DP5411)	100 次 (DP5412)
溶液 PTL	室温	15ml	30ml
蛋白酶 K(20mg/ml)	-20℃	1ml	1ml×2
裂解液 DL	室温	55 ml	55 ml×2
蛋白沉淀液	室温	25ml	50ml
去蛋白液 RE	室温	25ml	50ml
漂洗液 RW	4℃ (一个月)	15 ml	25 ml
	-20℃ (长期)	第一次使用前按说明加指定量乙醇	
RNase-free H ₂ O	室温	10 ml	20 ml
70%乙醇	室温	9ml RNase-free H ₂ O	18ml RNase-free H ₂ O
		第一次使用前按说明加指定量乙醇	
RNase-free 吸附柱 RA	室温	50 个	100 个
收集管 (2ml)	室温	100 个	200 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。
- 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。
- 裂解液 DL 使用前加入β-巯基乙醇至终浓度 4%。

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	样品太厚，蛋白酶 K 活性降低
	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。
	漂洗液 RW 内忘记加乙醇	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。
OD ₂₆₀ /OD ₂₈₀ 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 ₂₈₀ 值会较高，造成比值低。	检测时用 TE 稀释样品
	污染了蛋白或者苯酚	做步骤 9 吸取上清水相的时候小心不要吸到中间相和下层有机相
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℃。

目 录

接前表

出现的问题	可能的原因	建议解决方法
下游的 RT-PCR实验 不成功	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。
	忘记做步骤 10，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 14，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。

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

目 录

接前表

出现的问题	可能的原因	建议解决方法
下游的 RT-PCR实验 不成功	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。
	忘记做步骤 10，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 14，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。

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