

## 一、试剂盒组成、储存、稳定性

试剂盒组成	保存	50 次 (DP5321)	100 次 (DP5322)
溶液 PTL	室温	15ml	30ml
蛋白酶 K	-20℃	20mg	20mg×2
裂解液 MRL	4℃避光	55 ml	55 ml×2
去蛋白液 RE	室温	30ml	60ml
漂洗液 RW	4℃ (一个月)	15 ml	25 ml
	-20℃ (长期)	<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	10 ml	20 ml
70%乙醇	室温	9ml RNase-free H <sub>2</sub> O	18ml RNase-free H <sub>2</sub> O
		<b>第一次使用前按说明加指定量乙醇</b>	
RNase-free 吸附柱 RA	室温	50 个	100 个
收集管 (2ml)	室温	50 个	100 个

本试剂盒在室温储存 12 个月不影响使用效果。

### 注意事项

1. 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!
2. 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。
3. 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 MRL 可以常温运输，收到后 4℃避光保存。
4. 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。
5. 蛋白酶 K 提供的是冻干粉，使用前请按照标签浓度比例加入 PCR 水或者灭菌水加以稀释。蛋白酶 K 为酶溶液，应该避免反复冻融降低活性，如果要分多次使用，最好按照每次使用量分装后 -20℃ 保存。

## 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	<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
	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收到中间相和下层有机相
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 MRL 性质或者 PH 值的物质。

出现的问题	可能的原因	建议解决方法
	吸取上清时吸入了中间相	做步骤9吸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 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