



总 RNA 柱式提取试剂盒

产品描述

本试剂盒可以快速从细胞、细菌和部分动物组织中提取高质量的总 RNA, 不使用酚和氯仿等有毒物质。试剂盒中裂解液 (Lysis Buffer) 含有强变性剂和 RNA 酶抑制剂, 能够迅速裂解样品并失活 RNA 酶, 确保操作过程中 RNA 的完整性。提取得到的总 RNA 可用于 RT-PCR、qPCR、Northern blotting、cDNA 文库构建等多种实验。整个提取过程仅需 10 min, 操作简单快速、稳定性高。

本试剂盒仅适用于部分组织类型, 包括肝脏、肠、脑、脾脏和柔软的肿瘤组织, 不适用于肺、心脏、皮肤、骨骼、肌肉等坚韧的组织。

订购信息

产品名称	货号	规格
总RNA柱式提取试剂盒	AN51L517	50T
总RNA柱式提取试剂盒	AN51L518	100T

产品组分

组分	规格 (50T)	规格 (100T)
A.Lysis Buffer	30mL	60mL
B.Wash Buffer*	12mL	12mL
C.Elution Buffer	5mL	10mL
D.RNA纯化柱 (带收集管)	50套	100套

◆ **Wash Buffer 使用前请加入 48ml 无水乙醇, 摇匀后使用。**

运输与保存

常温运输。常温保存, 有效期12个月。

使用方法

一、 样品裂解

1. 贴壁培养的细胞

- 移除培养基, PBS洗一次;
- 在培养板中加入500 μ L的Lysis Buffer ($<3 \times 10^6$ 个细胞), 水平放置片刻, 再用枪头吹吸或搅拌数次, 直至细胞完全裂解。转移至1.5mL离心管中, 用力反复吹打数次, 充分裂解直到看不到细胞团为止, 然后进行步骤二;

注: (1) 细胞样品建议用6孔板或35mm培养皿培养细胞, 培养至合适的密度进行 RNA提取 (24孔板培养的细胞培养至90%以上的细胞密度也可使用)。 (2) 不方便直接裂解的培养容器, 可以使用细胞刮刮下细胞或者胰酶消化后, 将细胞收集到离心管中。 (3) 对于T细胞/B细胞等体积很小、RNA含量很低的细胞, 建议增加细胞数到至少 1×10^6 以上。

2. 悬浮培养的细胞

- 取 $1 \sim 3 \times 10^6$ 个细胞的悬液至1.5 mL离心管, 1000 g离心1 min收集细胞;
- 去上清, 加入500 μ L的Lysis Buffer, 用力吹吸10次, vortex 10 s, 保证细胞完全裂解, 看不到细胞团, 然后进行步骤二。



3. 细菌细胞

5,000 rpm离心3 min收集适量的菌体($<5 \times 10^8$), 弃去上清, 加入100 μ L含有溶菌酶的TE buffer, 吹打混匀, 室温静置孵育数分钟。加入500 μ L的Lysis Buffer, 剧烈振荡20 s, 12,000rpm离心1~2 min, 取上清, 然后进行步骤二。

4. 动物组织 (适合肠、肝、脑、脾、肿瘤, 不适用肺、心、皮肤等坚硬组织)

- (1) 匀浆器匀浆: 切取新鲜组织10~50mg至1.5 mL离心管中, 加入500 μ L的Lysis Buffer, 用组织匀浆机彻底匀浆组织, 直至无肉眼可见的组织块。12,000 rpm离心1~2 min。
- (2) 或液氮研磨: 在液氮中将10~50mg组织充分研磨, 将研磨成粉的样品转移至离心管中, 加入加入500 μ L的Lysis Buffer, 剧烈振荡20 s, 12,000rpm离心1~2 min。
- (3) 转移不超过400 μ L上清至新离心管中。

二、RNA提取

1. 细胞样品

较精确估计裂解液体积, 向细胞裂解液中加入等体积的无水乙醇, 将离心管剧烈颠倒几次, 或用移液器用力吹吸数次, 充分混匀, 然后将液体转移至离心柱上, 进行步骤3。**注:** 可能会产生沉淀, 这是正常现象, 不影响提取过程, 继续后续操作。

2. 组织样本

较精确估计裂解液体积, 向裂解液中加入0.5倍体积的无水乙醇 (或等体积的70%乙醇), 将离心管剧烈颠倒几次, 或用移液器用力吹吸数次, 充分混匀, 然后将液体转移至离心柱上。

3. 7,000 rpm离心1 min (如离心柱上仍有液体残留可增加转速至12,000 rpm), 弃废液。
4. 向RNA柱中加入500 μ L的Wash Buffer, 12,000 rpm离心1 min。
5. 倒掉废液, 将RNA柱装回收集管, 12,000 rpm空管离心1 min, 完全去除残留的Wash Buffer。
6. 取出RNA吸附柱, 放入一个RNase-free的1.5mL离心管中, 开盖晾干1 min。向RNA柱的膜中心部位加入25~50 μ L的Elution buffer, 室温静置1 min。
7. 12,000 rpm离心1 min。样品可长期保存至-80°C。**注:** 加洗脱液体积不应少于25 μ L, 否则会影响回收率, 为了获得更大浓度的RNA, 可将离心的RNA溶液重新加入到吸附柱, 重复洗脱一遍。

注意事项

1. 本产品仅限于科学实验研究使用, 不得用于临床诊断、治疗等领域。
2. 加入Lysis Buffer后, 一定要充分振荡, 保证RNA提取的效果; 如果混合液非常粘稠难以转移, 明显样品量过多, 增加Lysis buffer用量或减少样本用量。
3. 细胞或组织裂解产物, 上柱前需要加入无水乙醇, 充分混匀之后加入离心柱离心。
4. 使用的样本避免反复冻融, 以免影响RNA的产率和质量。
5. **关于RNA纯度:** OD260/OD280和OD260/OD230比值是衡量RNA纯度的指标, 高质量的RNA, OD260/OD280的值在1.9-2.2之间, OD260/OD230大于1.8 (比较纯净的比值大于2.0)。本试剂盒提取RNA, 使用Nanodrop等微量分光光度计测定OD 260/280在1.90~2.2之间, OD260/230在2.0~2.2之间均属正常。
6. **关于DNA微量残留:** 在总RNA提取过程中, 通常无法完全避免基因组DNA的微量残留。使用本试剂盒, 由于结合了独特的缓冲液体系和高特异性吸附膜, 获得的总RNA中DNA残留量较少, 对大多数qPCR扩增过程影响不大。如果实验对基因组DNA残留较为敏感, 建议采取以下措施: ①DNase I 处理: 在后续步骤中使用DNase I 酶消化基因组DNA。②优化引物设计: 选择跨内含子的引物或设计在基因组DNA和cDNA上扩增产物大小不同的引物对, 以避免DNA作为模板参与扩增反应。