



## 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

- (1) 移除培养基，PBS洗一次；
- (2) 在培养板中加入500 μL的Lysis Buffer (<3x10<sup>6</sup>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1x10<sup>6</sup>以上。

##### 2. 悬浮培养的细胞

- (1) 取1~3x10<sup>6</sup>个细胞的悬液至1.5 mL离心管，1000 g离心1 min收集细胞；
- (2) 去上清，加入500 μL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( $<5\times10^8$ )，弃去上清，加入100 $\mu$ 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  $\mu$ 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  $\mu$ 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  $\mu$ L的Lysis Buffer，剧烈振荡20 s，12,000rpm离心1~2 min。
- (3) 转移不超过400 $\mu$ 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  $\mu$ 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 $\mu$ 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 $\mu$ 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。