



## 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	AN51L518	100 T

### 产品组分

组分	规格 (100T)
A. Lysis Buffer	60 mL
B. Wash Buffer*	12 mL
C. Elution Buffer	10 mL
D. RNA纯化柱 (带收集管)	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  $\mu$ 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 $1 \times 10^6$ 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  $\mu$ 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 $\mu$ 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 $^{\circ}$ 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。