

组织/细胞 RNA 快速提取试剂盒

RN11050 (preps)

使用手册

Ver:260325

用于组织、细胞等动物样本的总 RNA 提取

不使用酚、氯仿、巯基乙醇，提取速度快

◇产品编号：RN11050 (preps)

◇常温运输、保存（15-25℃）

◇本产品仅供科研使用

成都百菲特科技有限公司

一、产品概述：

本试剂盒适用于大多数动物组织或培养细胞的总 RNA 提取，如肝脏、胰腺、肾脏、胸腺、心脏、肠道、肌肉组织或培养细胞。

不使用酚、氯仿、巯基乙醇，提取速度快，通常 10 多分钟可以完成 RNA 提取。

通过使用 gDNA 清除柱，可有效减少基因组 DNA 污染，RNA 纯度高，无蛋白和其它杂质污染，可直接用于反转录或进行 RNA 建库。

二、规格及组成：

组 分	RN11050 (50preps)
裂解液	30 ml
结合液	25 ml
去蛋白液 RW1	35 ml
漂洗液 RW	50 ml
RNase-free H ₂ O	10 ml
gDNA 清除柱	50 个
RNA 吸附柱	50 个
使用手册	1 份

三、注意事项：

1. 裂解液、结合液和去蛋白液 RW1 含有刺激性化合物，建议操作时戴乳胶手套、口罩及护目镜，避免沾染皮肤和衣服。若不慎沾染皮肤、眼睛时，用大量清水或生理盐水冲洗，必要时及时就医。
2. 对于公用的电泳槽及制胶板，建议在 RNA 电泳前进行清洗，防止电泳槽或制胶设备污染引发的 RNA 降解。推荐使用[固相 RNase 清除剂](#)对电泳槽和制备设备进行浸泡和清洗。
3. 为确保离心参数稳定，本手册使用[相对离心力](#)来确定离心机的转数，如“室温，13,000×g 离心 5min”表示在当前温度下离心 5min，离心机在对应转速下产生的相对离心力约为 13,000 倍地球引力。通常在离心机上被标识为“RCF”（Eppendorf）或“×g”（Thermo）。
4. 对于部分动物组织样本的 RNA，当通过电泳检查 RNA 完整性时，建议使用变性凝胶电泳或使用 Agilent Tapestation 4150/4200 的 RNA ScreenTape 胶片（属于自动化的变性凝胶电泳），得到的 RNA 电泳图才能正常显示 28S 和 18S 的 rRNA 电泳条带。如果使用常规琼脂糖凝胶电泳（非变性胶），最终的 RNA 电泳图可能只会呈现清晰的 18S 条带，28S 条带仍在 18S 条带上方，但是根据组织样本不同会在泳道中呈现弥散的情况，不易观察，也影响判断 28S 和 18S 的比例关系。对于常规琼脂糖凝胶电泳（非变性胶）的 RNA 电泳结果，根据仅有的 18S 条带的完整性，也能判断 RNA 的质量情况。

四、使用方法：

1. 根据样本类型不同，参考下列三种方法来裂解样本：

▲贴壁细胞：

吸去细胞培养基上清后，直接在培养皿中加入 500μl 裂解液来裂解细胞（使用移液器反复吹打

可以帮助更快裂解细胞)。对于培养瓶或其它容器,可以使用细胞刮刀将细胞从容器中分离出来,或者使用胰蛋白酶消化液处理后,离心收集细胞,去除上清,在细胞沉淀中加入500 μ l裂解液来裂解细胞,使用涡旋振荡或移液器吹打混匀,直到无明显细胞团块即可。

▲悬浮细胞:

离心收集细胞,在13,000 $\times g$ 离心10sec,使细胞沉淀到离心管底部,吸除上清后加入500 μ l裂解液来裂解细胞(细胞数量 $<8 \times 10^6$ 个细胞),使用涡旋振荡或移液器吹打混匀,直到无明显细胞团块即可。

▲动物组织:

新鲜动物组织取15-20mg,对于使用RNAlater保存的组织取10-15mg,将组织样本放入2ml研磨管中,加入500 μ l裂解液和1颗5mm研磨珠,在研磨仪上进行样本的破碎,研磨仪设置60Hz运行60秒可以破碎绝大多数组织样本。



注意: 样本处理量不要超过DNA清除柱的处理能力,否则容易引起DNA残留甚至导致RNA产量降低。部分组织如肝脏、胰腺、脾脏、胸腺的DNA含量非常丰富,组织量一旦超过gDNA柱的处理能力,就非常容易引起基因组DNA残留,所以在最开始摸索适合的样本量,或者不清楚组织样本品中的DNA\RNA含量时,尽可能使用最少的样本量开始测试,比如细胞不超过 $3-4 \times 10^6$ 个, RNAlater保存样本不超过10mg,新鲜组织样本不超过15mg,根据RNA提取情况来决定后续实验的样本增减。

2. 对于组织样本,需在13,000 $\times g$ 离心3-5min,沉淀细胞碎片和杂质,尽可能分离出清澈的上清液。对于细胞类样本,当细胞彻底消化后,裂解液仍会保持较清澈的状态,可以不用离心,直接进行下一步。
3. 转移400 μ l上清液到一个gDNA清除柱中,室温,13,000 $\times g$ 离心2min,避免吸入底部杂质。
4. 保留离心管中的滤液(RNA在滤液中)。
5. 用移液器较精确地估计滤液体积,加入与滤液等体积的结合液,立即吹打或颠倒混匀。
6. 将上一步的混合物转移到一个RNA吸附柱中(每次最多700 μ l,请分多次进行离心),室温,13,000 $\times g$ 离心1min,弃掉收集管中的废液。
7. 向RNA吸附柱中加入700 μ l去蛋白液RW1,室温,13,000 $\times g$ 离心1min,弃掉收集管中的废液。
8. 加入500 μ l漂洗液RW,室温13,000 $\times g$ 离心1min,弃滤液。加入500 μ l漂洗液RW,再漂洗一次。
9. 将RNA吸附柱放回空的收集管中,室温,13,000 $\times g$ 离心2min。



注意: 此步非常重要,否则残留的乙醇会影响RNA的使用。

10. 将RNA吸附柱放入一个RNase-free离心管中,直接在吸附膜的中间部位加30-100 μ l(推荐50-70 μ l) RNase-free H₂O,室温放置3-5min。
11. 室温,12,000 $\times g$ 离心2min。离心管中溶液即为RNA样品,可以立即使用或存放于-80 $^{\circ}$ C待用。
12. 可选步骤: 将离心后的RNA洗脱液重新加回RNA吸附柱中,进行第二次洗脱,可以进一步提高RNA产量。

产品咨询: 18040311981
公司 QQ: 24111785
公司微信: 右侧二维码
成都百菲特科技有限公司
<http://www.biofit.com.cn>

