

## 细胞总 RNA 提取试剂盒

### 产品概述

本试剂盒可以高效率的从 96、48、24、12、6 孔板培养细胞中提取得到高纯度高质量的总 RNA。试剂盒提供的高效 DNA-Cleaning Column，轻松实现上清液和细胞裂解物分离，并吸附除去基因组 DNA，操作简便、省时；RNA-Only Column 能高效的结合 RNA。全体系 RNase-Free，提取的 RNA 无降解；Buffer RW1、Buffer RW2 缓冲液洗涤体系，使获得的 RNA 纯度极高。

### 产品组成

试剂盒组成	FZ007-12	FZ007-50
	12T	50T
Buffer cRL1	6 mL	25 mL
Buffer cRL2	4 mL	15 mL
Buffer RW1	6 mL	25 mL
Buffer RW2	6 mL	24 mL
RNase-Free ddH <sub>2</sub> O	5 mL	10 mL
RNA-only Column	12 套	50 套
DNA-Cleaning Column	12 套	50 套
RNA 收集管	12 支	50 支

### 储存条件

本试剂盒在常温(15~25°C)干燥条件下，可保存 24 个月。

若溶液产生沉淀，在使用前务必将试剂盒内的溶液在室温中放置一段时间，必要时可在 37°C 水浴中预热 10 分钟，以溶解沉淀，混匀后再使用。

### 注意事项

所有实验步骤均在常温(15~25°C)进行(包括离心)，切勿使用冰浴和低温(4°C)离心。

**试剂盒使用前，请在 Buffer cRL2 中添加乙醇，加入量请参照试剂瓶上标签。**

**试剂盒使用前，请在 Buffer RW2 中添加乙醇，加入量请参照试剂瓶上标签。**

RNA 产率和质量与细胞样本用量和洗脱体积有关，建议每 250  $\mu$ L Buffer cRL1 使用细胞的量不超过  $1 \times 10^6$

洗脱体积：洗脱液体积不应少于 20  $\mu$ L，否则会影响 RNA 回收效率。

### 操作步骤

1. 根据组织来源按以下说明进行细胞裂解。

a. **贴壁细胞**：将培养皿倾斜约 30°，使用移液器或移液管缓慢吸去培养基，务必彻底吸除干净，然后加入 Buffer cRL1(加入量见下表)进行消化、裂解(将 Buffer cRL1 完全覆盖培养皿，倾斜培养皿，使用移液器将细胞全部吹打下来)；或者使用胰酶消化细胞，离心收集细胞后参照下表加入 Buffer cRL1(加入量见下表)，用移液器反复吹打混匀(直到看不到细胞团为止)。

b. **悬浮细胞**：直接离心收集细胞，参照下表加入 Buffer cRL1(加入量见下表)，用移液器反复吹打混匀(直到看不到细胞团为止)。

注意：RNA 在 Buffer cRL1 不会受到 RNase 的污染，如果细胞在加入 Buffer cRL1 裂解后不即时使用，在室温条件下可保存约 24 h，在 4°C 中保存约 1 周，更长时间保存请存放于 -80°C，使用时将溶液在室温或 37°C 溶解即可。

培养器皿	细胞数量	Buffer cRL1	Buffer cRL2
96/48/24/12 孔板	$< 1 \times 10^6$	250 $\mu$ L	400 $\mu$ L
6 孔板	$> 1 \times 10^6$	500 $\mu$ L	800 $\mu$ L

2. 将裂解好的细胞混合液转移至 DNA-Cleaning Column 中(DNA-Cleaning Column 放入收集管中)，13,000 xg 离心 2 min。移除 DNA-Cleaning Column，保留收集管内上清液。

注意：如果 DNA-Cleaning Column 收集管底部有沉淀产生，请将上清液转移至干净离心管中再进行步骤 3，切勿将其吸入上清液中。



+86-18911183647



service@d-nano.cn



www.d-nano.cn



3. 向上述上清液中加入 1.6 倍体积 Buffer cRL2(加入量见上表)(**使用前请确认已按照说明加入乙醇**)，轻柔混匀。  
注意：Buffer cRL2 加入量请按照实际操作过程中上清液的体积进行比例换算加入。例如：250 $\mu$ L 上清液中加入 400  $\mu$ L Buffer cRL2。如果混合液出现浑浊或絮状沉淀，请直接进行步骤 4 即可。
4. 将混合液全部转移至 RNA-only Column 中(纯化柱放入收集管中)，13,000 xg 离心 1 min，弃掉收集管中的废液。  
注意：如果混合液中出现絮状沉淀，请将沉淀一并转移至纯化柱中。若细胞数量为 6 孔板，请分两次将混合液全部过柱。
5. 向纯化柱中加入 500  $\mu$ L Buffer RW1，13,000 xg 离心 1 min，弃掉收集管中废液。
6. 向纯化柱中加入 700  $\mu$ L Buffer RW2(**使用前请确认已按照说明加入乙醇**)，13,000 xg 离心 1 min，弃掉收集管中废液。
7. 重复步骤 6。
8. 将纯化柱放回收集管中，13,000  $\times$ g 空管离心 2 min，去掉离心柱中残余的 Buffer RW2。
9. 将纯化柱转移至 RNA 收集管中，向纯化柱的膜中央滴加 50  $\mu$ L 的 RNase-Free H<sub>2</sub>O(切勿将洗脱液添加到压圈上，否则会损失较大体积的洗脱液)，室温放置 2 min。13,000  $\times$ g 离心 1 min 收集 RNA 溶液。  
注意：硅胶膜会吸附少量的液体，洗脱后所得的 RNA 产物体积会有所偏差。增加洗脱体积可提高 RNA 产量，RNase-Free H<sub>2</sub>O 加入体积不应低于 20  $\mu$ L，体积过小会影响洗脱效率。得到的 RNA 溶液可直接用于下游实验或置于 -80 $^{\circ}$ C 保存。

