

快速培养细胞 RNA 提取试剂盒说明书

产品组成

快速培养细胞 RNA 提取试剂盒	5 次样品	50 次制备	250 次制备
Cat. No.	5024005	5024050	5024250
核酸纯化柱	5 个	50 个	250 个
2 ml 离心管	5 个	50 个	250 个
Buffer RLY	3 ml	30 ml	150 ml
Buffer WBR (浓缩液)	2 ml	20 ml	50 ml×2
RNase-free Water	1.5 ml	2 ml×2	30 ml
说明书	1 份	1 份	1 份

产品储存与有效期

试剂盒如果储存于常温（0~30℃），可在两年内保持使用性能无明显变化；如果将产品储存于 2~8℃，可延长产品的有效期至两年以上。

技术支持

杭州新景生物试剂开发有限公司研发部：e-mail: technical@simgen.cn, 电话：400-0099-857。

产品介绍

本产品不涉及酚氯仿的使用，适合从 $1-2 \times 10^6$ 培养细胞中快速分离纯化总 RNA。培养细胞经裂解液溶解后释放 RNA，无需添加无水乙醇即可结合到纯化柱上，溶解的蛋白与 PCR 抑制物则被过滤除去。RNA 经洗液洗涤后，用 RNase-free Water 洗脱，即可用于 RT-PCR, Northern blot, Dot blot, mRNA 分离等各种分子生物学实验。

用户需自备的试剂与物品

1. 无水乙醇
2. RNase-free 1.5 ml 离心管
3. 移液器及吸头（为避免 RNA 酶的污染，建议选用含有滤芯的 RNase-free 移液器吸头）
4. 一次性手套及防护用品和纸巾
5. 台式少量离心机（可配离心 1.5 ml 离心管和 2 ml 离心管的转子）
6. 旋涡振荡器
7. 无 RNA 酶使用的实验室

使用前准备

1. 如果离心机有制冷功能，请将温度设置到 25℃。
2. 根据试剂瓶标签上的指示在 Buffer WBR 中加入无水乙醇，并在标签的方框中打勾做好“乙醇已加”的标记。
3. 因为唾液、皮肤上均含有 RNA 酶，所以 RNA 提取的全过程都需要戴乳胶手套和口罩。

操作步骤：

1. 在 1.5 ml 离心管中收集 $1-2 \times 10^6$ 的培养细胞，用手指轻弹管壁，使细胞分散开来。

* 细胞收集方法：

- A. 悬浮培养的细胞：300×g离心5分钟收集约 $1-2 \times 10^6$ 培养细胞，弃上清液，进入步骤2操作。
- B. 贴壁培养的细胞：弃培养上清，用胰酶消化并悬浮细胞，300×g离心5分钟收集约 $1-2 \times 10^6$ 培养细胞，弃胰酶上清液，进入步骤2操作。
- C. 细胞培养板中单孔培养的细胞（如果单孔细胞数 $\leq 1 \times 10^6$ 时，请选用微量细胞总RNA试剂盒：Cat. No.: 5004050）：弃培养上清，直接加入500 μ l Buffer RLY，并用吸头来回吸注数次细胞使细胞溶解，直接进入步骤3操作。

2. 加入 500 μ l Buffer RLY，勿弃吸头，直接吹打混匀直至没有细胞团块，静置 1 分钟。
3. 将混合液加入核酸纯化柱中（核酸纯化柱置于 2 ml 离心管中），盖上管盖，14000 rpm 离心 1 分钟。

* 如果离心机的离心速度达不到14000 rpm，则用最高速离心2分钟。

4. 弃 2 ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2 ml 离心管中，在核酸纯化柱中加入 600 μ l Buffer WBR，12000 rpm 离心 30 秒。

* 确认在Buffer WBR中已经加入无水乙醇。

5. 重复步骤 4 一次。
6. 弃 2 ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2 ml 离心管中，14000 rpm 离心 1 分钟。

* 如果离心机的离心速度达不到14000 rpm，则用最高速离心2分钟。

* 请勿省略该步骤，否则可能因所纯化的核酸中混有乙醇而影响后续的RT-PCR效果。

7. 弃 2 ml 离心管，将核酸纯化柱置于一个洁净的 RNase-free 1.5 ml 离心管中，在纯化柱的膜中央加入 50~100 μ l RNase-free Water，盖上管盖，室温静置 1 分钟，12000 rpm 离心 30 秒。

* 如果离心机没有防泄漏的盖子，请将离心条件改为8000 rpm离心1分钟，以免管盖脱落而损伤离心机。

8. 弃纯化柱，洗脱的 RNA 可立即用于各种分子生物学实验；或者将 RNA 储存于 -70°C 以下备用。

* 提取的RNA中会有DNA残留，如需要彻底除去DNA，请用DNase I（Simgen Cat. No. 8003050）消化残留的DNA。