



Cytoplasmic & Nuclear RNA Purification Kit 细胞浆/细胞核 RNA 快速提取试剂盒

货号: GxRNA009

❖ **适用范围:** 适用于快速提取新鲜培养组织细胞的细胞浆/
细胞核 RNA。

❖ **试剂盒组成、储存、稳定性:**

试剂盒组成	保存	100 次(RN6401)
Buffer RLN	室温	20 ml
裂解液 RLT Plus	室温	50 ml
去蛋白液 RW1	室温	70 ml
漂洗液 RW	室温	20 ml <i>第一次使用前按说明加指定量乙醇</i>
RNase-free H ₂ O	室温	10 ml
RNase-free 吸附柱 RA 和收集管	室温	100 套

本试剂盒在室温储存 12 个月不影响使用效果。

储存事项:

1. 不合适的储存于低温 (4℃ 或者 -20℃) 会造成溶液沉淀, 影响使用效果, 因此运输和储存均在室温下 (15℃ - 25℃) 进行。
2. 避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、PH 值变化, 各溶液使用后应及时盖紧盖子。

❖ **产品介绍：** 本试剂盒采用特制的裂解液，可以选择性的裂解细胞膜，释放细胞浆 RNA，离心取上清便可以提取细胞浆 RNA。去除上清以后的留下的细胞核沉淀可以提取细胞核 RNA。从而达到分别提取细胞浆 RNA 和细胞核 RNA 的目的。

❖ **产品特点：**

1. 完全不使用有毒的苯酚，氯仿等试剂，也不需要乙醇沉淀等步骤。
2. 简捷，单个样品操作一般可在 25 分钟内完成，
3. 独家研发成功基因组 DNA 清除柱技术/特殊配方可以有效清除 gDNA 残留。和进口的同类对比，大大减少了细胞核 RNA 里面的 gDNA 残留量。
4. 多次柱漂洗确保高纯度，OD₂₆₀/OD₂₈₀ 典型的比值高达 2.1~2.2，基本无 DNA 残留，可用于 RT-PCR，Northern-blot 和各种实验。

❖ **注意事项**

1. **需要使用新鲜的细胞，组织样品。**
2. **所有的离心步骤均可在室温完成(4℃离心也可以)**，使用转速可以达到 13,000 rpm 的传统台式离心机
3. 需要自备乙醇，研钵(可选)。
4. 裂解液 RLT Plus 和去蛋白液 RW1 中含有刺激性化合物，操作时戴乳胶手套，**避免 沾染皮肤，眼睛和衣服。若沾染皮肤、眼睛时，要用大量清水或者生理盐水冲洗。**
5. 本试剂盒可以提取 100 个细胞浆 RNA 样品，或者 50 个细胞核样品。因为提取一个细胞核 RNA 样品需要 2 套 RNA 吸附柱，因此如果需要同时提取 50 个细胞浆 RNA 样品+50 个细胞核 RNA 样品，需要额外单独订购 50 套 RNA 吸附柱。

❖ **操作步骤：（实验前请先阅读注意事项）**

提示：

- ⇒ 第一次使用前请先在漂洗液 RW 瓶加入指定量无水乙醇!
- ⇒ 可选：每次临用前在 Buffer RLN 中加入 1 mM DTT (optional)
- ⇒ 可选：每次临用前在 Buffer RLN 中加入 1000 U/ml RNase inhibitor

(一)、样品处理裂解

1. 培养细胞

A1. 贴壁细胞：培养皿生长的细胞 (<3.5cm 直径) 不需胰酶消化，彻底吸干净培养液体后加 1 x PBS 漂洗一遍，彻底吸掉液体，接**操作步骤 3**；不方便直接裂解的培养容器，可以用细胞刮子刮下细胞，或者胰蛋白酶消化后吹打下来收集细胞到 1.5ml 离心管。

A2. 悬浮细胞：收集 $<10^7$ 悬浮细胞到一个 1.5ml 离心管。

B. 300 x g 离心 5 分钟。完全吸弃上清，留下细胞团，注意不完全弃上清会稀释裂解液导致产量纯度降低。

C. 快速拨弹 (flick) 离心管底部，使细胞沉淀松散，立刻接**操作步骤 3**。

2. 小量组织

A. 液氮研磨+匀浆：

可以直接切 10-15 mg 组织放入研钵，加入液氮磨成粉，然后趁液氮挥发完，但尚未解冻时候加入 175 μ l Buffer RLN(事先放冰上预冷)，用移液器吹打直到组织裂解完全，转移裂解物到新的离心管。

B. 立刻接**操作步骤 4**。

3. 加入 175 μ l Buffer RLN(事先放冰上预冷)裂解细胞。

如果是培养皿，加入 Buffer RLN 后摇晃将 Buffer RLN 覆盖所有的细胞，置冰上裂解 5 分钟，中间可摇晃一两次帮助裂解。移液器吹打帮助裂解后转入新离心管。

如果是收集的细胞沉淀，flick 管底打散沉淀后加 Buffer RLN 充分重悬细胞，置冰上裂解 5 分钟，中间可颠倒一两次帮助裂解。

4. 13,000 rpm 离心 3 分钟。转移上清 (含细胞浆 RNA) 到一个新离心管。保留沉淀 (含细胞核 RNA)。在沉淀中加入 400 μ l 裂解液 RLT Plus，振荡混匀置冰上备用。根据细胞的种类和多少，有时候可能看不见明显的细胞核沉淀。

(二)、细胞浆 RNA 提取

1. 样品处理裂解第 4 步得到的上清中加入 600 μl 裂解液 RLT Plus，涡旋震荡混匀。加入 430 μl 无水乙醇，吹打混匀。
2. 立刻将混合物(每次小于 720 μl ，多可以分两次加入)加入一个吸附柱 RA 中，（吸附柱放入收集管中）13,000 rpm 离心 30 秒，弃掉废液。
3. 加 700 μl 去蛋白液 RW1，室温放置 30 秒，13,000 rpm 离心 30 秒，弃掉废液。
4. 加入 500 μl 漂洗液 RW（**请先检查是否已加入无水乙醇!**），13,000 rpm 离心 30 秒，弃掉废液。加入 500 μl 漂洗液 RW，重复一遍。
5. 将吸附柱 RA 放回空收集管中，13,000 rpm 离心 2 分钟，尽量除去漂洗液，以免漂洗液中残留乙醇抑制下游反应。
6. 取出吸附柱 RA，放入一个干净 1.5ml 离心管中，根据预期 RNA 产量在吸附膜的中间部位加 30-50 μl RNase free water，室温放置 1 分钟，1,3000 rpm 离心 1 分钟得到 RNA 溶液。

洗脱缓冲液体积不应少于 30 μl ，体积过小影响回收效率。如果需要得到更大浓度的 RNA，将离心得到的 RNA 溶液加回到吸附柱重复洗脱一遍。

（三）、细胞核 RNA 提取

1. 样品处理裂解第 4 步得到的重悬后沉淀（已经加入了 400 μl 裂解液 RLT Plus）吹打混匀后加入一个 RNA 吸附柱 RA 上（吸附柱放入收集管中）。立刻 13,000 rpm 离心 1 分钟，保留滤过液（细胞核 RNA 在滤过液中）。
2. 在滤过液中加入一半体积（0.5 倍体积）乙醇，此时可能出现沉淀，但是不影响提取过程，**立即吹打混匀**，不要离心。
3. 立刻将混合物加入一个新的吸附柱 RA 中，（吸附柱放入收集管中）13,000 rpm 离心 30 秒，弃掉废液。
4. 接操作步骤“（二）细胞浆 RNA 提取”步骤 3 开始做，完成后续的实验操作。

官方网址：<http://www.genesion.com.cn>

订货热线：4006169114、020-84224925

Email:whiga22@126.com

