

## 柱式法提取细胞 RNA 试剂盒

**货号:** R1250

**规格:** 50T/100T

**保存:** 室温 (15°C-25°C) 干燥保存, 有效期 1 年。2°C-8°C 保存时间更长。

试剂盒组成	50T	100T	保存温度
裂解液 A	25ml	50ml	RT
溶液 B	2.5ml	5ml	RT
结合液 C	11mL	22mL	RT
RNA 洗脱液	24.5ml	49ml	RT
漂洗液 1	15ml	30ml	RT
漂洗液 2	6ml	12ml	RT
洗脱液	5ml	10ml	RT
吸附柱	100	200	RT
2ml 收集管	100	200	RT
说明书	1 份	1 份	

**注意:** 使用前请先在结合液中加入异丙醇, 漂洗液中加入无水乙醇, 加入体积请参照瓶体上的标签。

### 产品简介:

该试剂盒对经典的异硫氰酸胍抽提 RNA 的方法进行了改良。改良后的裂解液能迅速裂解细胞, 释放出 RNA 的同时灭活 RNase。RNA 在高离序盐状态下选择性吸附于离心柱内硅基质膜上, 再通过一系列漂洗和离心等步骤进一步将蛋白等杂质去除, 最后用 RNase-Free ddH<sub>2</sub>O 将 RNA 从硅基质膜上洗脱。本试剂盒操作快速便捷, 安全无需使用酚、氯仿等有毒试剂, 操作安全。

### 操作步骤:

#### 1、细胞裂解

取  $1 \times 10^{6-7}$  个细胞, 每管加入 500ul 裂解液 A, 加入 50ul 溶液 B 用移液枪吹打混匀, RT 放置 5min。

2、向离心管中加入 700 $\mu$ l 结合液 C(使用前请先检查是否已加入异丙醇), 上下颠倒充分混匀。

3、向吸附柱中加入 600ul 混合液, 静置 1min。4°C 12000rpm 离心 1min, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱重新放回收集管(收集管留下, 用于步骤 5 使用)中。

备注: 由于体积过大, 需二次上柱, 再将剩余混合液重复步骤 3

4、将吸附柱放到新的干净的 2ml 收集管上, 在吸附柱中加入 500 $\mu$ L RNA 洗脱液, 4°C, 12000rpm 离心 2min, 收集滤液, 扔掉吸附柱。

5、在滤液中加入 700 $\mu$ l 结合液，用移液枪吹打混匀后加入到新的吸附柱中，（使用步骤 3 的收集管），4 $^{\circ}$ C，12000rpm 离心 2min，弃滤液。

备注：由于体积过大，需二次上柱，再将剩余混合液重复步骤 5

6、向离心管中加入 600 $\mu$ L 漂洗液 1（使用前请确认是否已加入无水乙醇），静置 1min，4 $^{\circ}$ C，12000rpm 离心 1min，弃滤液。

7、向离心管中加入 600 $\mu$ L 漂洗液 2（使用前请确认是否已加入无水乙醇），4 $^{\circ}$ C，12000rpm 离心 1min，弃滤液。

8、4 $^{\circ}$ C，12000rpm 离心 2min，将吸附柱敞口室温放置 3min，以除去多余的乙醇。

9、将吸附柱放到一个干净的离心管上，向吸附柱中加入 30-100 $\mu$ L 洗脱液，室温放置 2min，4 $^{\circ}$ C，12000rpm 离心 2min，得到 RNA 溶液，RNA 保存于-80 $^{\circ}$ C。

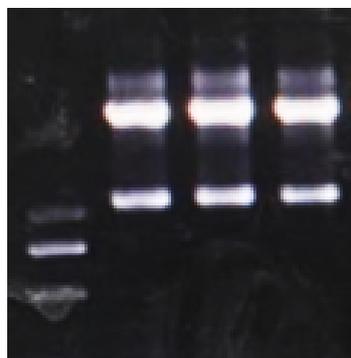
#### 注意事项：

1、所有相关器皿耗材都应为 RNase-free 产品，操作过程要小心，戴口罩、手套避免环境中 RNA 酶污染样品。

2、洗脱液的体积不应少于 30 $\mu$ L，体积过少会影响提取效率，RNA 产物应保存在-80 $^{\circ}$ C，以防 RNA 降解。

3、RNA 浓度及纯度检测：提取的 RNA 片段可用琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计检测浓度与纯度。OD<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub> 比值应为 2.0-2.2。

#### 实验数据：



	浓度 (ng/ul)	A260/A280
1	181.2	2.08
2	209.4	2.09
3	171.7	2.07

备注：10<sup>6</sup>细胞样品，用 50 $\mu$ L RNase-free ddH<sub>2</sub>O 洗脱。

#### 相关产品：

R1600	DEPC 处理水
R1050	5 $\times$ RNA Loading Buffer
M1010	10 $\times$ MOPS 缓冲液
R1220	柱式法提取全血 RNA 试剂盒
R1230	柱式法提取植物 RNA 试剂盒
R1240	柱式法提取组织 RNA 试剂盒