

培养细胞总 RNA 提取试剂盒 (双柱法)



金普来
Gene-Protein Link

产品货号	G01E01S	G01E01M	G01E01L
产品规格	20T	50T	100T
Buffer A	10mL	25mL	50mL
Buffer B	6mL	15mL	30mL
Buffer C	10mL	25mL	50mL
Buffer D	10mL	24mL	48mL
RNase-Free ddH ₂ O	5mL	10mL	20mL
DNA清除柱	20管	50管	100管
RNA结合柱	20管	50管	100管
贮存条件	室温	室温	室温

【产品介绍】

本试剂盒采用双离心柱法,可以高效从6孔/12孔/24孔/96孔培养细胞中提取到高纯度高质量的总RNA。其中DNA清除柱,能有效分离并吸附基因组DNA,而RNA结合柱可高效结合RNA,操作简便省时,从而使获得的RNA无降解,无DNA,无蛋白等杂质。

本试剂盒全程RNase-Free,全程可在室温条件下操作,无需冰浴和低温离心,无需额外添加DNase,无需使用异丙醇/氯仿等微毒类试剂,全程11min内完成,适用于培养细胞($10^4\sim 10^6$)的总RNA提取及纯化。

采用本试剂盒提取到的总RNA可用于多种下游分子实验,例如:cDNA合成、RT-PCR、Real Time PCR、Northern Blot、Dot Blot、体外翻译、芯片分析、PolyA筛选、分子克隆和RNase保护分析等。

【需要未提供】

- 无水乙醇
- β -巯基乙醇(选用)
- 普通离心机
- RNase-Free加样器,RNase-Free离心管/容器等

【使用前准备】

1. 所有实验步骤均在常温(15~25℃)进行(包括离心),切勿使用冰浴和低温(4℃)离心。
2. (选用)使用前,请在Buffer A中加入 β -巯基乙醇。按照每1mL Buffer A加入10 μ L β -巯基乙醇比例,建议现配现用。

注:如提取的RNA不用于克隆全长cDNA,仅用于qPCR或测序分析等其他下游操作,可以选择不加 β -巯基乙醇。

注:Buffer A在加入 β -巯基乙醇后可在4℃放置1个月。

3. 使用前,请在Buffer B中加入无水乙醇,加入量请参照试剂瓶上标签。

培养细胞总 RNA 提取试剂盒 (双柱法)



Buffer B 中无水乙醇的添加量见下表:

产品货号	产品规格	无水乙醇加入量
G01E01S	20T	12mL
G01E01M	50T	30mL
G01E01L	100T	60mL

4. 使用前, 请在 Buffer D 中加入无水乙醇, 加入量请参照试剂瓶上标签。

Buffer D 中无水乙醇的添加量见下表:

产品货号	产品规格	无水乙醇加入量
G01E01S	20T	25mL
G01E01M	50T	60mL
G01E01L	100T	120mL

5. Buffer A 和 Buffer C 在低温贮存时可能有晶体析出现象, 可将其放置于室温或 37°C 一段时间, 将晶体溶解后混匀再使用。

【使用方法】

1. 样本处理

- 贴壁细胞: 将培养皿中的液体彻底吸干净, 直接用 Buffer A(加入量参照下表) 进行消化、裂解; 或离心收集细胞后加入 Buffer A(参照下表), 用移液器反复吹打混匀(直到看不到细胞团为止)。

注: 需将细胞培养皿中的液体彻底吸干净, 否则会影响 RNA 的得率和纯度。

- 悬浮细胞: 直接离心收集细胞, 加入 Buffer A(加入量参照下表), 用移液器反复吹打混匀(直到看不到细胞团为止)。

注: RNA 在 Buffer A 不会受到 RNase 的污染, 如果细胞在加入 Buffer A 裂解后不即时使用, 在室温条件下可保存 24h, 在 4°C 中可保存 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。

培养容器	细胞数量	试剂添加量	
		Buffer A	Buffer B
12/24/48/96孔板	$<10^6$	250 μ L	400 μ L
6孔板/3.5cm板	$\sim 10^6$	500 μ L	800 μ L
6cm或更大培养板	$>10^6$	建议使用《动物组织 RNA 提取试剂盒》 (Cat:G01E02) 或使用不超过 10^6 细胞	
细胞培养瓶			



2. 将裂解完毕的细胞液转移至 DNA 清除柱中(将清除柱放入收集管中), 12,000rpm (~13,400×g) 离心 2min。移除 DNA 清除柱, 保留收集管内上清液。
注: 如果 DNA 清除柱收集管底部有沉淀产生, 需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。
3. 向上述上清液(体积约为 250 μL)中加入 1.6 倍体积 Buffer B (400 μL), 轻柔混匀。
**注: Buffer B 加入量请按照实际上清液的体积进行比例换算加入。
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. 将约 400 μL 混合液转移至 RNA 结合柱中(将结合柱放入收集管中), 按照 12,000rpm (~13,400×g) 离心 1min, 弃掉收集管中的废液。
注: 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 孔板或 3.5cm 板, 请分两次将混合液全部过柱。
5. 向结合柱中加入 500 μL Buffer C, 12,000rpm (~13,400×g) 离心 1min, 弃掉收集管中的废液。
6. 向结合柱中加入 700 μL Buffer D, 12,000rpm (~13,400×g) 离心 1min, 弃掉收集管中的废液。
7. 重复步骤 6。
8. 将结合柱放回收集管中, 12,000 rpm (~13,400×g) 空管离心 2min, 去掉离心柱中残余的 Buffer D。
9. 将结合柱转移至新的离心管中, 向结合柱的膜中央滴加 20~50 μL 已于 65℃ 预热的 RNase-Free ddH₂O(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 2min。然后 12,000rpm (~13,400×g) 离心 1min, 收集 RNA 溶液。
**注 1: 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。
注 2: RNase-Free ddH₂O 加入体积不应低于 20 μL, 体积过小会影响洗脱效率。
注 3: 得到的 RNA 溶液可直接用于下游实验或置于-80℃ 保存。
注 4: 由于本试剂盒对 RNA 二级结构保护较好, 建议凝胶电泳之前, 先将得到的 RNA 溶液置于 72℃ 变性处理 5~10min。**
10. 将离心得到的 RNA 溶液重新加至纯化柱中, 重复步骤 9(选用)。

【注意事项】

- 本实验应在单独 RNA 操作间进行, 并在实验前清理好实验桌, 实验时佩戴一次性手套、口罩, 以避免 RNA 降解。
- 本试剂盒在室温条件下贮存, 有效期可达两年。在 2~8℃ 条件下可贮存更长时间。但在低温条件下贮存时, 试剂容易产生沉淀。使用前需将试剂在室温条件下放置一段时间, 必要时需在 37℃ 水浴中预热 10min, 使沉淀溶解后再使用。
- Buffer A、Buffer C 具有刺激性, 操作时请进行相关防护措施(佩戴口罩/手套等)。
- 本试剂盒中结合柱 RNA 的最大承载量为 60 μg, 离心柱液体最大承载量为 700 μL。
- RNA 产率和质量与组织样本用量和洗脱体积有关, 建议每 250 μL Buffer A 使用细胞量不超过 10⁶。
- 洗脱体积: 洗脱液体积不应少于 20 μL, 否则会影响 RNA 回收效率。
- 本产品仅用于科学研究用途。

培养细胞总 RNA 提取试剂盒 (双柱法)



金普来
Gene-Protein Link

【相关产品】

货号	产品名称	规格
G01E02	动物组织总 RNA 提取试剂盒 (双柱法)	20T/50T/100T
G01E03	植物组织总 RNA 提取试剂盒 (双柱法)	20T/50T/100T
G01E04	多糖多酚植物总 RNA 提取试剂盒 (双柱法)	20T/50T/100T
G01E05	Total RNA 提取液	10mL/100mL
G01E10	植物基因组 DNA 提取试剂盒	20T/100T/200T
G03R01	第一代逆转录预混液 RT-Mix (两步法)	10T/20T/50T
G03R02	第一代逆转录预混液 RT-Mix (一步法)	10T/20T/50T

Version: 20190118 (第一版)