

动物组织细胞 RNA 提取试剂盒 使用说明书

产品编号: RE621

储存条件: 2-8°C保存, 保质期 1 年。

产品内容:

产品名称	包装组成
裂解液	50mL
RNA 结合液	50mL
RNA 洗涤液	50mL
RNA 纯化柱	50 套
RNA 溶解液	10mL
说明书	1 份

产品说明:

Coolaber 动物组织细胞 RNA 提取试剂盒基于 Trizol 的方法, 适用于常规动物组织细胞样品的总 RNA 提取。纯化好的总 RNA 可用于 mRNA 分离, RT-PCR, Northern 杂交等下游分子实验。

不适用于骨骼以及软骨等特殊样品的 RNA 提取, 此类样品建议使用骨组织 RNA 提取试剂盒 (Cat: RE641)。

自备试剂:

氯仿

(一) 样品处理:

1. 贴壁细胞: 吸尽培养液, 在每 10 cm² 细胞中加入 1 mL 的裂解液。用枪轻柔吹打数次, 确保细胞全部裂解并且让基因组 DNA 充分断裂。
2. 培养细胞: 每 1-5×10⁶ 细胞沉淀, 加入 1mL 的裂解液。用枪轻柔吹打数次, 确保细胞全部裂解并且让基因组 DNA 充分断裂。

3. 新鲜组织：每 50-100mg 的组织样品液氮研磨成粉后加入 1 mL 的裂解液，或者直接加入 1 mL 的裂解液用匀浆器充分研磨。震荡 30 s。

(二) 样品纯化：

1. 将裂解物转移至一个干净的 1.5 mL 塑料离心管中，然后加入 0.2 倍体积的自备氯仿(1 mL 裂解液需 0.2mL 氯仿)，振荡器上充分振荡混匀 30 s。

2. 12,000rpm 室温离心 3 min，吸取上清到新的离心管中，建议取 900 uL 上清。

3. 在上清中加入 900 uL 的 RNA 结合液，颠倒混匀，分多次加入同一个 RNA 纯化柱中（如有絮状物或沉淀产生，一并加入纯化柱中）。12,000rpm 离心 1min，弃穿透液。

4. 在纯化柱中加入 0.5mL RNA 洗涤液，室温 12,000rpm 离心 30 s，弃穿透液；重复洗涤一次。

(三) RNA 收集：

1. 将结合有 RNA 的纯化柱 12,000rpm 离心 1min，甩干乙醇。

2. 弃收集管，将柱芯转移到 1.5mL 的 RNase-free 离心管中，加入 30-50uL RNA 溶解液，室温放置 1 min，12,000 rpm 离心 1 min 洗脱 RNA。得到的 RNA 可直接用于后续实验或者 -80°C 存放。

3. 如果要提高 RNA 产量，加入 30-50uL RNA 溶解液重复洗脱一次，合并两次穿透液；如果要提高 RNA 浓度，使用第一次的洗脱液加回到纯化柱中重复洗脱。

注意：建议 RNA 用于下游实验之前，先进行质量检测。经变性琼脂糖凝胶电泳后，会有清晰的 28S 和 18S 条带，以及中间弥散的 mRNA 条带，其中 28S 条带是 18S 条带亮度的 1.5-2 倍。有时还包括跑在最前面的较暗的 5S 条带。A260/A280 比值 1.8~2.0 对应 RNA 纯度 90-100%之间。