

细胞、组织总RNA 提取试剂盒说明书

GOONIE Cell / Tissue RNA Extraction kit

货号：400-105

运输储存条件： RNAzol Buffer 2-8℃运输保存，其它试剂和离心柱常温运输，室温（15-25℃）保存。Elution buffer 建议首次使用前分装成小份室温（15-25℃）保存。保质期为一年。

产品简介：

本试剂盒适用于从细胞、动物组织样品中快速提取高质量的总RNA。本试剂盒裂解液含异硫氰酸胍和酚，能迅速裂解生物样品并失活RNA酶，确保RNA提取的完整性。本试剂盒操作简单快速，性能稳定可靠，不使用氯仿，也无需进行耗时的醇沉淀，整个提取过程约25分钟，所提RNA产量大纯度高，适用于RT-PCR、RT-qPCR、Northern、基因表达芯片分析、高通量测序等实验。

产品组成：

产品编号	组分	(100次)
400-105A	RNAzol Buffer	50 ml
400-105B	Wash Buffer	30 ml
400-105C	Elution buffer	30 ml
400-105D	RNA纯化柱（带收集管）	100套

准备事项

1. 本试剂盒裂解液含酚，RNA 洗脱之前的步骤全程在通风橱操作，并穿戴好防护物品，如防护服装、手套、眼镜、面罩等。如果不慎接触到眼睛，应立即用大量的水冲洗并前往医院治疗；接触到皮肤，请立即用大量去垢剂和水冲洗，如仍有不适，请前往医院治疗。
2. 第一次使用前，必须向 Wash Buffer 中加入 90 ml 无水乙醇，并充分摇匀。
3. 首次使用建议先将 Elution buffer 在超净工作台小份分装。

操作步骤

1. 样本匀浆步骤

- 动物组织: 取 10-50 mg 动物组织到离心管中，加入 0.5 ml RNAzol Buffer，立即用研磨杵或匀浆器进行充分匀浆。肝脏、脾脏、肾脏等组织样品富含 RNA 和蛋白质，建议把样品量控制在 10-25mg。

组织用量参考

组织类型	肝脏、胰脏、肠、胃、脾、肾	心、肺	肌肉	脂肪
参考用量 (mg)	10-25 mg	20-30	20-50	50

- 贴壁细胞: 去除培养液，用 1×PBS 清洗一次。对于六孔板（直径 3.5cm），每孔加入 0.5ml RNAzol Buffer，用

- 移液枪反复吸打约 10 次让细胞裂解并脱落下来。（对于 10cm² 面积的培养瓶，加入 2 ml RNAzol Buffer。）
- 悬浮细胞: 离心收集细胞(5×10^6 细胞), 用 1×PBS 清洗一次后离心, 吸弃残液。涡旋或弹打松散细胞。加入 0.5 ml RNAzol Buffer, 用移液枪反复吸打约 10 次让细胞充分裂解。

2. 按 0.5 ml RNAzol Buffer 加入 200 μ l Elution Buffer, 上下颠倒混匀, 室温放置 5 分钟。

3. 室温, 12000×g 离心 10 分钟。

RNA 结合步骤

4. 转移 500 μ l 上清液至新的 1.5 ml 离心管中, 加入等体积异丙醇, 上下颠倒混匀, 液体转入 RNA 纯化柱 (含收集管)。(注: 上层水相约 600 μ l, 建议吸取 500 μ l, 以免吸到杂质造成污染; 提取微量样本时, 为减少损失可转移全部上清。)

5. 室温, 12000×g 离心 1 分钟, 弃滤液。

柱清洗步骤

6. 加入 500 μ l Wash Buffer 至 RNA 纯化柱 (含收集管), 室温 12000×g 离心 1 分钟, 弃滤液。

7. 重复步骤 6 一次。

8. 将 RNA 纯化柱装回收集管, 空管室温 12000×g 离心 1 分钟。

RNA 洗脱步骤

9. 于超净台中将 RNA 纯化柱转入干净的无 RNA 酶的 1.5 ml 离心管, 弃收集管, 纯化柱开盖晾干 2 分钟。

10. 在 RNA 纯化柱膜中央部位加入 20-30 μ l 的 Elution Buffer, 室温静置 2 分钟。

11. 室温 12000×g 离心 1 分钟, 弃纯化柱, 1.5 ml 离心管中产物即为 RNA, 置于 -80°C 保存。

注意事项

1. 提取过程在室温进行, 按推荐使用合适的样本量, 以避免产生不溶物堵塞离心柱。试剂盒开封后, 每次使用应严格按照规范操作, 谨防 RNA 酶污染, Elution Buffer 需分装成小份保存。
2. Wash Buffer 首次使用前需加入对应体积无水乙醇并充分摇匀。
3. 为充分溶解 RNA, 洗脱液的体积最好不低于 20 μ l。重复洗脱可提高 RNA 产量。洗脱液需加至 RNA 纯化柱中央的膜上, 不可加至侧壁。
4. 为保证提取质量, 建议全程使用无 RNA 酶的试剂耗材, 尤其是 RNA 洗脱步骤。