

GOONIE Fast Cell RNA Extraction kit

细胞 RNA 快速提取试剂盒说明书

货号：400-100

产品保存：Elution buffer 建议分装成小份室温（15-25℃）保存，其它试剂和离心柱室温（15-25℃）保存。常温运输。

产品简介：

本试剂盒适用于从约 1×10^6 个细胞中快速提取高质量的大于 200 nt 的总 RNA。本试剂盒采用独特的裂解液，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，不使用苯酚、氯仿等有毒物质，所提 RNA 产量大纯度高，适用于 RT-PCR、RT-qPCR 等实验。

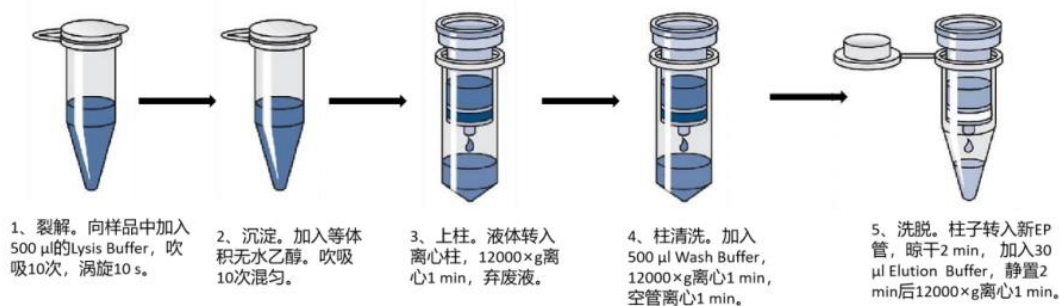
产品组成

产品编号	组分	(100 次)
400-100A	Lysis Buffer	50 ml
400-100B	Wash Buffer	15 ml
400-100C	Elution Buffer	20 ml
400-100D	RNA 纯化柱（带收集管）	100 套

注：第一次使用前，必须向 Wash Buffer 中加入 45 ml 无水乙醇。

适用样品说明

对于常规细胞样品，建议样本量为 1×10^5 - 2×10^6 个细胞，不确定效果的样品可优先尝试 1×10^6 个细胞量再根据提取结果进行调整。对于 T 细胞/B 细胞等 RNA 含量低的细胞，建议样本量为 1×10^6 - 3×10^6 个细胞。

操作步骤**实验流程图****样品裂解步骤**

1A.贴壁细胞

- a. 吸干培养基，用适量 PBS 清洗一次；
- b. 吸干 PBS，加入 500 μ l 的 Lysis Buffer，置于摇床室温快速摇 2 分钟（120-150 rpm 转速），用移液枪吹吸 10 次（尽量不要产生气泡）。

1B.悬浮细胞

- a. 取 1×10^6 个细胞的悬液至 1.5 ml 离心管，500 g 离心 3 分钟；
- b. 小心吸弃上清，注意不要吸到细胞，以免样本损失。
- c. 向离心管中加入 500 μ l 的 Lysis Buffer，用移液枪反复吹洗 10 次，然后涡旋混匀 10 秒。

上柱/RNA结合步骤

2. 向裂解后的细胞或组织中加入等体积的无水乙醇，吹吸 10 次充分混匀(如果产生沉淀，这是正常现象，可用移液枪用力吹吸将沉淀分开)，然后将液体转入 RNA 纯化柱。
3. 室温 12000 $\times$ g 离心 1 分钟，弃废液。

柱清洗步骤

4. 向 RNA 离心柱中加入 500 μ l 的 Wash Buffer，室温 12000 $\times$ g 离心 1 分钟，弃废液。
5. 将 RNA 离心柱装回收集管，空管室温 12000 $\times$ g 离心 1 分钟，弃废液。
6. 于超净台中将 RNA 离心柱转入干净的无 RNA 酶的 1.5 ml 离心管，最大风速开盖晾干 2 分钟。

RNA洗脱步骤

7. 在 RNA 离心柱膜中央部位加入 20-30 μ l 的 Elution Buffer，室温静置 2 分钟。
8. 室温 12000 $\times$ g 离心 1 分钟，产物置于-80 $^{\circ}$ 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。对于贴壁细胞样品，通常十二孔板 70%以上密度、六孔板 40%左右密度能获得较好的提取结果。若六孔板细胞密度在 60%以上，建议加入在板中 1 ml 的 Lysis buffer 裂解，然后加入等体积无水乙醇，转入 2 个离心柱然后按说明书步骤进行操作。
- 2、试剂盒开封后，每次使用应严格按照规范操作，谨防 RNase 污染，Elution 需分装成小份保存。
- 3、Wash Buffer 首次使用前需加入 45 ml 无水乙醇。
- 4、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。
- 5、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。