

产品组分

组分名称	组分编号	规格 50 RXN	保存条件
裂解液 RL1 (Buffer RL1)	RM30140	27 mL	RT
去蛋白液 PR2 (Buffer PR2)	RM30141	35 mL	RT
RNase-free H ₂ O	RM30142	5 mL	RT
漂洗液 WB2 (Buffer WB2)	RM30144	12 mL	RT
Micro RNase-free adsorption column and collection Tubes	RM30208	50 pk	RT
Micro gDNA remove column and collection Tubes	RM30209	50 pk	RT
Poly Carrier	RM30206	200 µL	-20°C
微量研磨杵 (Micro pestle)	RM30207	3 pk	RT
1.5 mL RNase-free centrifuge Tubes	RM30202	50 pk	RT

产品说明

本试剂盒不依赖于苯酚、氯仿等有毒试剂, 可用于各类微量样本 RNA 快速提取, 独特的裂解液迅速裂解微量样品的细胞和灭活细胞 RNA 酶, 裂解混合物通过一个微量 gDNA 清除柱, gDNA 被清除而 RNA 穿透滤过。用乙醇调节结合条件后, 滤过的 RNA 在高离盐状态下选择性吸附于离心柱内硅基质膜, 再通过一系列快速的漂洗 - 离心的步骤, 最后使用低盐的 RNase-free H₂O 将纯净 RNA 从硅基质膜上洗脱, 提取的 RNA 可直接用于 RT-PCR、qPCR 及 RNA 建库等实验。

保存温度

本试剂盒室温储存 18 个月不影响使用效果。不适合保存在低温条件下, 容易产生沉淀进而影响实验效果, 保存和运输均可在室温进行。Poly Carrier 短期可 4°C 保存一个月, 长期保存置于 -20°C。

注意事项

1. 本产品仅限于专业人员进行科学研究使用, 不得用于临床诊断或治疗。
2. 所有离心步骤均在室温进行, 使用转速 ≥ 13,000 rpm (~ 14,000 × g) 的离心机。
3. Buffer RL1、Buffer PR2 中含有刺激性化合物, 操作时戴乳胶手套, 避免沾染皮肤, 眼睛和衣服。若沾染皮肤、眼睛时, 要用大量清水或者生理盐水冲洗。
4. 每次使用后应及时盖紧试剂瓶, 避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、pH 值变化。
5. 本试剂盒可去除体系中绝大多数的 DNA 污染, 纯化获得的 RNA 通常无需使用 DNase I 处理即可用于下游实验操作。如果下游实验对痕量 DNA 十分敏感, 可以使用 DNase I 进一步清除 DNA 污染。
6. 使用本试剂盒时, 请穿戴实验服、一次性乳胶手套、一次性口罩、使用 RNase-free 耗材, 避免 RNase 污染。

实验准备

1. 自备材料: 无水乙醇。
2. 第一次使用前请先在 50 RXN 漂洗液 WB2 瓶加入 48 mL 的无水乙醇!
3. 使用前需检查 Buffer RL1 是否有沉淀, 如果有沉淀, 需要在 65°C 水浴来溶解, 沉淀, 待溶液澄清后方可使用。

操作说明（请先阅读注意事项）**样本处理**

注：如果处理的细胞量小于 5000 个或者处理组织量小于 10 µg 时，匀浆前请在裂解液中加入 4 µL Poly Carrier。

● 组织细胞

1. **贴壁细胞：**不需消化，彻底吸干培养液后直接加 350 µL 裂解液 RL1 反复吹打细胞裂解（裂解后直接接操作提取步骤）；不方便直接裂解的培养容器，可以用细胞刮刮下细胞，或者胰蛋白酶消化后吹打下来收集细胞到 1.5 mL 离心管。
悬浮细胞：收集 $< 5 \times 10^5$ 悬浮细胞到一个 1.5 mL 离心管（自备），13,000 rpm 离心 10 sec（或者 300 x g 离心 5 min），使细胞沉淀下来。完全吸弃上清，留下细胞团，注意不完全弃上清会稀释裂解液导致产量纯度降低。
2. 轻弹离心管底部，使细胞沉淀松散，加 350 µL ($< 5 \times 10^5$ 个细胞) 裂解液 RL1，涡旋振荡直至无明显细胞团即可。
3. 立刻接下面提取步骤。

● 动物组织

1. **电动匀浆：** < 5 mg 组织加入 350 µL 裂解液 RL1 后彻底电动匀浆 20-40 sec。
研磨杵+匀浆：在 1.5 mL 离心管加入 100 µL 裂解液 RL1，加入 < 5 mg 组织立刻用微量研磨杵研磨完全，补足裂解液 RL1 到 350 µL。
液氮研磨+匀浆：在液氮中研磨组织成细粉后，取适量组织细粉 (< 5 mg) 转入装有 350 µL 裂解液 RL1 的 1.5 mL 离心管中，涡旋振荡 20 sec，充分裂解。难裂解样品可用移液器反复吹打匀浆或者研磨杵帮助匀浆。
注：若研磨匀浆后不溶物碎片太多，可将匀浆后裂解物 13,000 rpm 离心 3 min，沉淀可能存在的裂解困难的碎片或者不溶物。将上清液加到微量 gDNA 清除柱上（清除柱放在收集管内）。
2. 立刻接下面提取步骤。

提取步骤

1. 将裂解混合物或匀浆混合物全部加到微量 gDNA 清除柱上（清除柱放在收集管内）。
2. 13,000 rpm ($\sim 14,000 \times g$) 离心 30 sec，**保留滤液（RNA 在滤过液中）。**
3. 用微量移液器较精确估计滤过液体积（通常为 350 µL），加入 0.5 倍体积的无水乙醇，此时可能出现沉淀，但是不影响提取过程，立即吹打混匀，不要离心。
4. 将上述混合液加入至放好收集管的微量 RNase-free 吸附柱中，13,000 rpm ($\sim 14,000 \times g$) 离心 30 sec，**倒去滤液。**
5. 将微量 RNase-free 吸附柱放回收集管中，向吸附柱加入 700 µL 去蛋白液 PR2，13,000 rpm ($\sim 14,000 \times g$) 离心 30 sec，**倒去滤液。**
6. 将微量 RNase-free 吸附柱放回收集管中，向吸附柱加入 500 µL 漂洗液 WB2（**确认使用前已加入无水乙醇**），13,000 rpm ($\sim 14,000 \times g$) 离心 30 sec，**倒去滤液。**
7. 重复上述步骤 6 一次。
8. 将微量 RNase-free 吸附柱放回收集管中，空管 13,000 rpm ($\sim 14,000 \times g$) 离心 2 min，去除残留在吸附柱中的漂洗液 WB2。
9. 取出微量 RNase-free 吸附柱放至 1.5 mL RNase-free 的离心管中，向吸附柱的正中间悬空加入 10-20 µL 的 RNase-free H_2O ，室温静置 1 min 后，13,000 rpm ($\sim 14,000 \times g$) 离心 1 min，将 RNA 洗脱下来。
注：洗脱体积不应少于 6 µL，体积过小影响 RNA 产量。
10. 提取的 RNA 可直接用于下游实验或 $-80^\circ C$ 保存。