

# RNA 提取试剂盒

（纯化柱型）

产品编号	试剂名称	规格	保存条件
Omn-02	Lysis Buffer（裂解液）	30 mL	RT
	Wash Buffer A（去蛋白液）	30 mL	RT
	Wash Buffer B（漂洗液）	15 mL	RT
	Elution Buffer R（洗脱液）	10 mL	RT
	gDNA 去除柱	50 套	RT
	RNA 纯化柱	50 套	RT
	说明书	1 份	

## 一、运输与存储条件。

本产品常温运输与保存，有效期 2 年。

## 二、注意事项（请使用试剂盒前阅读此注意事项）。

1. RNA 容易降解，请使用 RNase-free 的 EP 管（1.5 mL）和枪尖，并在低温条件下提取 RNA。
2. 本产品提取的 RNA 包括 28 s 和 18 s RNA，不含 5 s RNA。因此，本产品不适用于 microRNA 提取。
3. 检测 RNA 吸光度时，260 nm、320 nm、230 nm 和 280 nm 处的吸光度值分别代表了核酸、背景（溶液浑浊度）、盐浓度和蛋白质等物质的吸光度值。OD260/OD280（R）体现了 RNA 的纯度，质量较好的 RNA 的 R 值应该在 1.8~2.2 之间。当 R<1.8 时，说明 RNA 溶液中的蛋白质污染比较明显。当 R>2.2 时，说明 RNA 已经被降解成了单核苷酸。
4. 利用琼脂糖凝胶检测 RNA 时，高质量的总 RNA 具有以下特征：电泳条带清晰，无拖尾、模糊现象；28 s 亮度应明显大于 18 s，比值接近或超过 2:1；5 s 条带亮度较弱或不可见。
5. 为了您的健康，实验过程中请穿好实验服、佩戴乳胶手套和安全眼镜。

## 三、产品简介。

RNA 提取试剂盒（纯化柱型）是一款利用 RNA 纯化柱与相关裂解-漂洗缓冲液组成的 RNA 提取系统，同时利用 gDNA 去除柱去除基因组 DNA，快速提取高纯度的 RNA。

## 四、特点与优势。

1. 本产品可以快速（20 min）提取 RNA。

2. 适用于多种（细胞、细菌、动物组织和植物组织等）类型生物样品的 RNA 提取。
3. gDNA 去除柱可以有效去除基因组 DNA，得到高纯度的 RNA。
4. 本试剂盒无需酚/氯仿抽提，及氯化锂或异丙醇沉淀，显著提高实验操作的安全性。

## 五、自备试剂与耗材。

无水乙醇，70%乙醇，RNase-free EP 管（1.5 mL）和枪尖。

## 六、使用说明。

1. 试剂配制。在 Wash Buffer B（漂洗液）中加入 35 mL 无水乙醇，混匀。
2. 细胞和组织裂解。
  - 1) 细胞裂解。
    - a) 贴壁细胞裂解。胰酶消化法收集细胞并计数，按照细胞数量添加一定体积的裂解液，混匀，室温裂解 3-5 min。或根据细胞培养皿大小，直接加入裂解液，吹打混匀，转移到 EP 管中，室温裂解 3-5 min。
    - b) 悬浮细胞裂解。离心收集悬浮细胞并计数，按照细胞数目添加一定体积的裂解液，混匀，室温裂解 3-5 min。

表 1. 裂解液统计表（细胞）

细胞数量	裂解液体积 (μL)	细胞培养皿直径 (mm)	裂解液体积 (μL)
少于 5×10 <sup>6</sup>	350	35	350
5-10×10 <sup>6</sup>	600	60	600

- 2) 动物组织裂解。组织块称重后加入液氮冷冻，研磨成粉末后转入 EP 管，加入裂解液，剧烈震荡 (Vortex) 20 秒；或将组织块加入裂解液中，利用手持式匀浆器破碎组织，室温裂解 3-5 min，再 12,000×g，4℃离心 3 min，弃沉淀，上清转移至新的 EP 管，即为组织裂解液。

表 2. 裂解液统计表（组织）

组织块重量 (mg)	裂解液体积 (μL)
少于 10	350
10-20	600

注：组织块重量不可超过 20 mg，否则裂解不充分，降低 RNA 产量与纯度

3. 将细胞裂解液或组织裂解液上清转入 gDNA 去除柱，12,000×g，4℃离心 30 sec，弃 gDNA 去除柱，保留滤液（含有 RNA）。

4. 向滤液中加入等体积的 70%乙醇，混匀，转入 RNA 纯化柱，12,000×g，4 °C离心 30 sec，弃滤液。  
（样品量较大时，加入乙醇会出现沉淀，可以把溶液与沉淀一起加到 RNA 纯化柱中）
5. 向 RNA 纯化柱中加入 500 μL Wash Buffer A（去蛋白液），12,000×g，4 °C离心 30 sec，弃滤液。
6. 向 RNA 纯化柱中加入 500 μL Wash Buffer B（漂洗液，请先检查是否加入无水乙醇），12,000×g，4 °C离心 2 min，弃滤液。
7. 将 RNA 纯化柱插入新的 RNase-free 的 EP 管中，向柱中央滴加 50-100 μL Elution Buffer R（洗脱液）或 RNase-free ddH<sub>2</sub>O，室温静置 2 min。
8. 12,000×g，4 °C离心 2 min，得到 RNA 溶液，立即用于反转录实验，或保存于-80 °C冰箱中。

七、琼脂糖凝胶鉴定提取的 RNA。

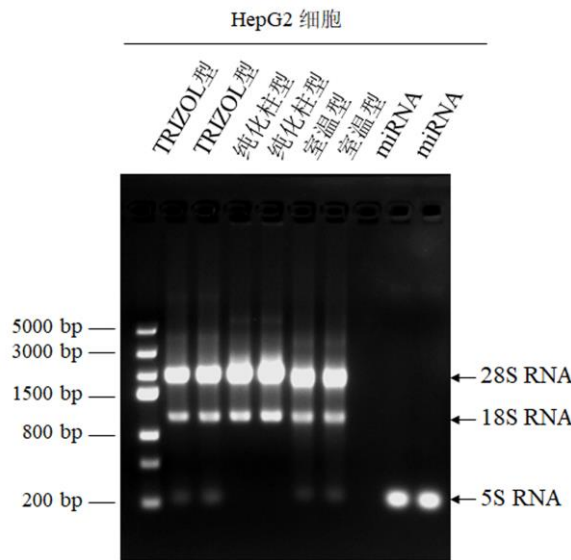


图 1. 四种 RNA 提取试剂盒提取 RNA 效果鉴定图。

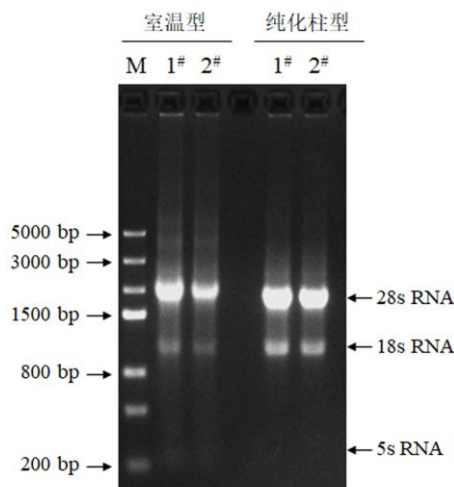


图 2. RNA 提取效果鉴定图。

## 八、常见问题与分析。

问题	可能原因	解决方案
RNA 降解	样品反复冻融或保存不当	尽量使用新鲜的组织或细胞样品。样品取出后尽快保存在-80 °C，避免反复冻融。
	耗材存在 RNA 酶污染。	选择使用 RNase-free 的耗材，或将耗材进行 RNase 清除处理。
	没有在低温环境下操作。	请在冰上或冰水混合物中提取 RNA。
	细胞消化过度。	收集细胞时缩短胰酶消化时间。
	RNA 洗脱液含有 RNase	选择使用 RNase-free 的洗脱液或 ddH <sub>2</sub> O。
	保存条件不当。	提取的 RNA 尽快保存在-80 °C，而不是-20 °C。
RNA 浓度低	样品量过低。	增加样品量。
	裂解不充分。	充分混匀，室温静置 5 min，或增加裂解液用量。
	洗脱液体积偏小。	洗脱体积不小于 50 μl。
	洗脱液未滴加到吸附膜上。	洗脱液滴加到纯化柱中央的吸附膜上。
	洗脱液孵育时间偏短。	洗脱液加入纯化柱中央后，室温静置 5 min，再洗脱。
基因组 DNA 污染	样品量过大。	按照说明书内样品量要求，减少样品用量。