

M5 Hiper 细胞浆细胞核 RNA 快速提取试剂盒

使用说明书

产品名称	单位	货号
M5 Hiper 细胞浆细胞核 RNA 快速提取试剂盒	50T	MF1065-01

【储存条件】 室温下能稳定保存 12 个月。

【试剂盒组分】

试剂盒组分	体积	注意事项
Buffer RLN	20 ml	
裂解液 RLT Plus	50 ml	
去蛋白液 RW1	70 ml	
漂洗液 RW	20 ml	第一次使用前按说明加指定量乙醇
RNase-free H ₂ O	10 ml	
RNase-free 吸附柱 RA 和收集管	100 套	

【产品简介】

本试剂盒采用特制的裂解液，可以选择性的裂解细胞膜，释放细胞浆 RNA，离心取上清便可以提取细胞浆 RNA。去除上清以后的留下的细胞核沉淀可以提取细胞核 RNA。从而达到分别提取细胞浆 RNA 和细胞核 RNA 的目的。

【适用范围】 适用于快速提取新鲜培养组织细胞的细胞浆/细胞核 RNA。

【产品特点】

1. 完全不使用有毒的苯酚，氯仿等试剂，也不需要乙醇沉淀等步骤。
2. 简捷，单个样品操作一般可在 25 分钟内完成。
3. 基因组 DNA 清除柱技术/特殊配方有效清除 gDNA 残留。和进口对比，减少了细胞核 RNA 里面的 gDNA 残留量。
4. 多次柱漂洗确保高纯度，OD₂₆₀/OD₂₈₀ 比值 2.1~2.2，无 gDNA 残留，可用于 RT-PCR，Northern-blot 和各种实验。

【注意事项】

1. 需要使用**新鲜的细胞，组织样品**。
2. 所有的离心步骤均可在室温完成（4℃离心也可以），使用转速可以达到 13,000 rpm 的传统台式离心机。
3. 需要自备乙醇，研钵(可选)。
4. 裂解液 RLT Plus 和去蛋白液 RW1 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。
5. 本试剂盒可以提取 100 个细胞浆 RNA 样品，或者 50 个细胞核样品。因为提取一个细胞核 RNA 样品需要 2 套 RNA 吸附柱，因此

如果需要同时提取 50 个细胞浆 RNA 样品+50 个细胞核 RNA 样品，需要额外单独订购 50 套 RNA 吸附柱。

6. Buffer RLN 含有 0.5% NP40，这是一种温和的非离子去垢剂，通过 NP40 来选择性裂解细胞膜（不裂解细胞核膜）来达到分开细胞浆/核 RNA 的目的，**如有个别细胞膜特殊导致裂解过头，或者裂解不佳，导致细胞浆/核 RNA 分离不理想，建议客户购买 Buffer RLN (No NP40)**，这个是未添加 NP40 的裂解液 RLN，可以通过往里面添加梯度的 NP40（例如添加 NP40 到终浓度 0.4%，0.5%，0.6%，0.7%，0.8% 等等）配成一系列的裂解液 RLN（含不同的 NP40 浓度），来摸索最佳的裂解条件，同时也可以调整裂解的时间，以期达到最佳分离效果。

【操作步骤】

温馨提示： 第一次使用前请先在漂洗液 RW 瓶加入指定量无水乙醇!

可选：每次临用前在 Buffer RLN 中加入 1 mM DTT (optional)

可选：每次临用前在 Buffer RLN 中加入 1000 U/ml RNase inhibitor

(一)、样品处理裂解

1. 培养细胞

A1. **贴壁细胞**：培养皿生长的细胞（<3.5cm 直径）不需胰酶消化，彻底吸干净培养液体后加 1 x PBS 漂洗一遍，彻底吸掉液体，接操作步骤 3；不方便直接裂解的培养容器，可以用细胞刮子刮下细胞，或者胰蛋白酶消化后吹打下来收集细胞到 1.5ml 离心管。

A2. **悬浮细胞**：收集 10^7 悬浮细胞到一个 1.5ml 离心管。

B. 300 x g 离心 5 分钟。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。

C. 快速拨弹 (flick) 离心管底部，使细胞沉淀松散，立刻接操作步骤 3。

2. 少量组织

A. 液氮研磨+匀浆：

可以直接切 10-15 mg 组织放入研钵，加入液氮磨成粉，然后趁液氮挥发完，但尚未解冻时候加入 175 μ l Buffer RLN(事先放冰上预冷)，用移液器吹打直到组织裂解完全，转移裂解物到新的离心管。

B. 立刻接操作步骤 4。

3. 加入 175 μ l Buffer RLN(事先放冰上预冷)裂解细胞。

如果是培养皿，加入 Buffer RLN 后摇晃将 Buffer RLN 覆盖所有的细胞，置冰上裂解 5 分钟，中间可摇晃一两次帮助裂解。移液器吹打帮助裂解后转入新离心管。

如果是收集的细胞沉淀，flick 管底打散沉淀后加 Buffer RLN 充分重悬细胞，置冰上裂解 5 分钟，中间可颠倒一两次帮助裂解。

4. 13,000 rpm 离心 3 分钟。转移上清（含细胞浆 RNA）到一个新离心管。保留沉淀（含细胞核 RNA）。在沉淀中加入 400 μ l 裂解液 RLT Plus，振荡混匀置冰上备用。

根据细胞的种类和多少，有时候可能看不见明显的细胞核沉淀。

(二)、细胞浆 RNA 提取

1. 样品处理裂解第 4 步得到的上清中加入 600 μl 裂解液 RLT Plus, 涡旋震荡混匀。加入 430 μl 无水乙醇, 吹打混匀。
2. 立刻将混合物(每次小于 720 μl , 多可以分两次加入)加入一个吸附柱 RA 中, (吸附柱放入收集管中) 13,000 rpm 离心 30 秒, 弃掉废液。
3. 加 700 μl 去蛋白液 RW1, 室温放置 30 秒, 13,000 rpm 离心 30 秒, 弃掉废液。
4. 加入 500 μl 漂洗液 RW (**请先检查是否已加入无水乙醇!**), 13,000 rpm 离心 30 秒, 弃掉废液。加入 500 μl 漂洗液 RW, 重复一遍。
5. 将吸附柱 RA 放回空收集管中, 13,000 rpm 离心 2 分钟, 尽量除去漂洗液, 以免漂洗液中残留乙醇抑制下游反应。
6. 取出吸附柱 RA, 放入一个干净 1.5ml 离心管中, 根据预期 RNA 产量在吸附膜的中间部位加 30-50 μl RNase free water, 室温放置 1 分钟, 1,3000 rpm 离心 1 分钟得到 RNA 溶液。

洗脱缓冲液体积不应少于 30 μl , 体积过小影响回收效率。如果需要得到更大浓度的 RNA, 将离心得到的 RNA 溶液加回到吸附柱重复洗脱一遍。

(三)、细胞核 RNA 提取

1. 样品处理裂解第 4 步得到的重悬后沉淀(已经加入了 400 μl 裂解液 RLT Plus)吹打混匀后加入一个 RNA 吸附柱 RA 上(吸附柱放入收集管中)。立刻 13,000 rpm 离心 1 分钟, 保留滤过液(细胞核 RNA 在滤过液中)。
2. 在滤过液中加入一半体积(0.5 倍体积)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。
3. 立刻将混合物加入一个新的吸附柱 RA 中, (吸附柱放入收集管中) 13,000 rpm 离心 30 秒, 弃掉废液。
4. 接操作步骤“(二)细胞浆 RNA 提取”步骤 3 开始做, 完成后续的实验操作。

【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时, 本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。