

通用型总 RNA 提取试剂盒使用说明书

(货号：GR2021 GR2022)

实验前准备：

细胞裂解液 I 保存于室温，漂洗液使用前加入 80ml 无水乙醇混匀使用。

离心条件：4℃ 离心， 12000rpm

试剂盒组成

试剂盒组成	50 次	100 次
细胞裂解液 I	50ml	100ml
去蛋白液 RPW1	25ml	50ml
漂洗液 RPW2	20ml	20ml×2
DNase I Reaction Buffer	1.1ml×3	1.1ml×5
RNase-free DNase I	400ul	800ul
RNase-free Water	5ml	5ml
RNase-free 吸附柱和收集管	50 套	100 套

实验步骤：

1. 样品准备：

从组织中提取 RNA：

1) 取 50-100mg 组织块直接放入液氮预冷的研钵中，加入少量液氮，迅速研磨成粉末，转入加有 1ml 细胞裂解液 I 的离心管中进行第 2 步操作。

2) 匀浆：取组织样品 50-100mg 加入细胞裂解液 I。另外，组织体积不能超过细胞裂解液 I 体积的 10%，否则匀浆效果会不好，用电动匀浆器充分匀浆约需 1-2 分钟。

从细胞中提取总 RNA：

1) 培养贴壁细胞：不须消化，可直接用细胞裂解液 I 进行消化、裂解，细胞裂解液 I 体积按 10cm²/1ml 比例加入。

2) 悬浮细胞可直接收集、裂解，每 1ml 细胞裂解液 I 可裂解 5×10⁶ 动物、植物或酵母细胞，或 10⁷ 细菌细胞。

2. 细胞或组织加细胞裂解液 I 充分混匀后，室温放置 5min，使其充分裂解；

3. 加入 0.2ml 氯仿，上下震荡混匀，静置 5min；

4. 4℃ 离心，12000rpm × 15min，取上清；

5. 取 500ul 上清转移到离心柱中，加入 250ul 无水乙醇，充分混匀，4 °C 12000rpm 离心 1min，弃掉收集管中的废液；
6. 加入 500ul **漂洗液 RPW2**，12000rpm 离心 1min，弃掉收集管中的废液；
7. 向离心柱中央加入60μl 的DNase I工作液，25°C-30°C放置15分钟。

DNase I 工作液的配制：取52 μl DNase I Reaction Buffer放入RNase-free的管中，再加入8 μl RNase-free DNase I充分混匀。

8. 加入 500ul **去蛋白液 RPW1**，静置 1 分钟，12000rpm 离心 1min，弃掉收集管中的废液；
9. 加入 500ul **漂洗液 RPW2**，12000rpm 离心 1min，弃掉收集管中的废液；
10. 重复步骤 9；
11. 12000rpm 离心 2min ，将离心柱转移到无 RNase 离心管中，加入 30-50ulDEPC 处理水 12000rpm 离心 1 分钟，将 RNA 溶液置-70°C 保存。