

RaPure Cell RNA Kit

细胞 RNA 快提试剂盒

本产品适合于从不超过 3×10^6 个培养细胞中提取总 RNA。试剂盒基于硅胶柱纯化技术，提取过程中无需使用有毒的酚氯仿抽提，整个提取过程只需 10 分钟。得到的 RNA 可直接用于 RT-PCR、Northern Blot、Poly A 纯化，核酸保护和体外翻译等实验。

产品组份

产品编号	R4010-01	R4010-02	R4010-03
纯化次数	10 次	50 次	250 次
HiPure RNA Mini Columns	10	50	250
2ml Collection Tubes	10	50	2 x125
Buffer CRL	10 ml	30 ml	150 ml
Buffer EW	15 ml	50 ml	250 ml
RNase Free Water	1.8 ml	10 ml	30 ml

版本号：2021-01

保存条件

本产品可在室温(15-25℃)保存 18 个月，长期保存时需置于 -2-8℃。

实验步骤

1. 离心收集不超过 3×10^6 个细胞样品，加入 100 μ l Buffer PBS，涡旋重悬细胞。
2. 加入 500 μ l Buffer CRL，涡旋混匀 10~15 秒，静置 1 分钟。
3. 把 HiPure RNA Mini Column 装在 2ml 收集管中。转移全部混合液至柱子中。12,000 \times g 离心 30~60 秒。
4. 倒弃滤液，把柱子装回收集管。加入 650 μ l Buffer EW 至柱子中，12,000 \times g 离心 30~60 秒。

对于特殊高敏应用，可以重复第 4 步一次以提高纯度。多数的应用，如定量 PCR 等应用，洗涤一次已经足够的。

5. (可选)倒弃滤液，把柱子装回收集管。加入 300 μ l Buffer EW 至柱子中，12,000 \times g 离心 2 分钟，按第 7 步进行操作。转移柱子时不要碰到底部的液体，若碰到底部的液体，按第 6 步进行操作。
6. 倒弃流出液，把柱子装回收集管。12,000 \times g 离心 2 分钟。
7. 将柱子转移至 1.5ml 离心管，加入 50~80 μ l RNase Free Water 至柱子膜中央。室温静置 1~2 分钟。12,000 \times g 离心 1 分钟。
8. 弃去柱子，把 RNA 保存于 -80 $^{\circ}$ C。

常见问题

1. 柱子堵塞

- **样品用量太多：**减少样品量，超量的组织或细胞反而会降低产量和纯度。
- **裂解液非常粘稠：**加大裂解液用量，并用一次性注射器抽打裂解液 5~10 次。

2. RNA 降解

- **RNase Free Water 被污染：**RNase Free Water 不含抑菌剂，室温放置或操作时可能会引入细菌或真菌污染。更换新的 RNase Free Water 或 DEPC 处理水。
- **样品贮藏问题：**反复解冻会引起 RNA 降解，确保样品解冻次数不要超过 2 次。
- **电泳原因：**常见的 RNA 降解现象都是电泳过程中引起的，更换新的 Loading Buffer 和电泳缓冲液。

3. DNA 的污染

- **DNase I 消化：**若纯化的 RNA 用于 RT-PCR，建议订购我司的 DNase on Column Kit 进行膜上 DNase 消化以彻底去除 DNA。

4. RNA 产量低

- **洗脱不充分：**RNase Free Water 需直接加到膜上，并静置几分钟后再离心，进行第二步洗脱以提高产量。
- **样品用量太多：**减少样品用量，超量的样品有时会引起产量下降。