天净沙系列

CAT#:230823

常温运输和保存

天净沙

细胞核细胞浆细胞器 RNA 纯化试剂盒

Nuclear、Cytosolic & Organelle RNA Purification Kit

使用手册 V1.0

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

产品及特点

真核细胞的 RNA 存在于三个部位，第一个部位是细胞核，主要是刚转录出来的各种 RNA 前体。第二个部位是细胞浆，主要是用做翻译模板的成熟 mRNA、rRNA、tRNA 和 miRNA 等。第三个部位是线粒体和叶绿体这些细胞器，它们有自己独立的 RNA。在某些研究中，需要分部位纯化 RNA。本产品就是专门满足此类需求的试剂盒。它具有下列特点:

1. 采用专用膜裂解液，依次分离细胞浆、细胞器裂解液和细胞核三个组分，分别用于提取对应的 RNA。
2. 起始材料为培养的哺乳动物细胞，如 HEK293、HeLa 和 HT1080，但不适用于实体组织和有细胞壁的真菌细胞和植物细胞。
3. 基于异硫氰酸胍的沉淀法提取，RNA 回收率高，基因组 DNA 污染少。
4. 得到的 RNA 可直接用于 RT-PCR、Northern 杂交、cDNA 合成等实验
5. 性价比高于进口的柱式 RNA 提取产品。
6. 本产品足够 50 次细胞浆 RNA 纯化、50 次细胞器 RNA 纯化和 50 次细胞核 RNA 纯化。一次提取需要 1E6-1E7 个哺乳动物培养细胞。
7. 本产品只能用于科研。

规格及成分

本产品由两部分组成，大扁盒包装，编号 230823pt1，常温运输和保存

成分	编号	规格	包装
细胞膜专用裂解液	230823a	20 mL	30 mL 本色瓶
细胞器专用裂解液	230823b	20 mL	30 mL 本色瓶
CI 混合液	220163-2	50 mL	60 mL 棕玻瓶
核酸沉淀剂 B 型	230908	150 mL	250 mL 本色瓶
RNA 洗脱液	971207	10 mL	10 mL 本色瓶
使用手册	230823sc	1 份	无

本产品由两部分组成，大立盒包装，编号 230823pt2，常温运输和保存

成分	编号	规格	包装
动物 RNA 提取液	220148a	250 mL	250 mL 棕玻瓶
使用手册	230823sc	1 份	无

运输及保存

常温运输和保存，动物 RNA 提取液需要放 4℃长期保存，有效期一年。

自备试剂

PBS、胰酶溶液（0.25% 胰酶、0.9 mM EDTA）、75%乙醇

使用方法

一、细胞的准备（本试剂盒不含本步相关试剂）

1. 在直径 10 cm 的培养皿（面积为 55 平方厘米）中培养贴壁细胞到 80%融合度，去掉培养基，用常温自备 PBS 洗涤贴壁细胞。
2. 加入 0.8 mL 胰酶溶液处理（0.25% 胰酶、0.9 mM EDTA）37℃保温直到细胞分

散（至少 2 分钟）。

3. 加入 5 mL 含 10%胎牛血清的培养基终止胰酶消化，然后将细胞转移到离心管中。
4. 4℃ 500×g 离心 10 分钟，小心去上清液。
5. 加入 0.5 mL 预冷 PBS 重悬细胞并转移到 1.5 mL RNase-free 离心管中。
6. 4℃ 500×g 离心 10 分钟，小心去上清液。

二、细胞浆裂解样本的准备

7. 在细胞沉淀中加入 400 μL 预冷的细胞膜专用裂解液。
8. 在 4℃冷室的脱色摇床上端对端摇晃 10 分钟以确保细胞膜完全裂解。
9. 4℃ 2000×g 离心 10 分钟。
10. 小心将上清液均分到两个 1.5 mL RNase-free 离心管中，分别加入 1 mL 动物 RNA 提取液，涡旋震荡 30 秒，标记为细胞浆 RNA，室温放置待用（跟后面的细胞器裂解样本和细胞核裂解样本一起纯化）。

三、细胞器裂解样本的准备

11. 在上步的沉淀（含细胞核和细胞器）中加入 400 μL 预冷的细胞器膜专用裂解液。
12. 在 4℃或冰上放置 30 分钟以确保细胞器膜完全裂解。
13. 4℃ 7000×g 离心 10 分钟。
14. 小心将上清液（细胞器裂解液）均分到两个 1.5 mL RNase-free 离心管中，分别加入 1 mL 动物 RNA 提取液，涡旋震荡 30 秒，标记为细胞器 RNA，室温放置待用（跟后面的细胞核裂解样本一起纯化）。

四、细胞核裂解样本的准备

15. 在上步的沉淀（含细胞核）中加入 1 mL 动物 RNA 提取液，涡旋震荡 30 秒，室温放置 10 分钟。离心管标记为细胞核 RNA。
16. 跟上面的两个样本共 5 管一起进入下一步操作。

五、RNA 纯化

17. 在装有裂解物-动物 RNA 提取液混合物的 5 个离心管中分别加入 0.2 mL CI 混合液，振荡器上充分振荡混均 30 秒。注意：一定要把官底的溶液震荡起来，否则只是液面的振动。
18. 14000×g 室温离心 3 分钟。
19. 将上清液（约 0.6 mL）转移到另一干净的 1.5 mL 塑料离心管中。下层有机相和中间层含有 DNA 和蛋白质，避免触及，否则将产生蛋白质和 DNA 污染。为保险起见，可以留下 50-100 μL 上清液不取。
20. 在上清液中加入等体积的核酸沉淀液 B 型，振荡器上振荡 30 秒混匀。
21. 14000×g 室温离心 5 分钟，离心底的侧面将形成 RNA 沉淀。

	22. 小心吸弃上清液，注意不要吸弃 RNA 沉淀。 23. 在含 RNA 沉淀的离心管中加入 1 mL 自备的 75%乙醇，振荡混匀 30 秒。 24. 14000×g 室温离心 3 分钟。 25. 小心吸弃上清液，注意不要吸弃 RNA 沉淀。 26. 短暂快速离心，用移液枪小心吸弃残留乙醇(约 50 μL)。注意不要吸弃 RNA 沉淀。此步十分重要，否则残留的乙醇会影响 RNA 的后续使用。 27. 室温放 1-2 分钟后立即加入 50-100 μL RNA 洗脱液使 RNA 沉淀溶解。千万不要用真空离心法使 RNA 沉淀过于干燥，否则 RNA 将变得十分难溶。RNA 样品可以立即用于电泳、OD 测定、RT-PCR 或存放于-80℃待用。
关联产品	细胞浆细胞器细胞核蛋白纯化试剂盒