



# GENESEED<sup>®</sup> Cell RNA Isolation Kit

E0204 50 rxns

Store at room temperature

*For research use only, not intended for diagnostic testing.*

Rev: 20221114





## 产品简介

本试剂盒采用硅基柱纯化技术，适合从少于  $1 \times 10^7$  个培养细胞样品中提取总 RNA。提取过程中无需使用有毒的酚氯仿抽提，无需进行耗时的醇类沉淀，整个过程只需 20~30 分钟。试剂盒结合了 DNA 过滤技术，可高效去除基因组 DNA。得到的 RNA 纯度高，可用于 RT-PCR、荧光定量 PCR、高通量测序、Northern Blot、poly A 筛选、体外翻译和分子克隆等多种实验。

## 产品组分

组分	E0204 (50 rxns)
GS Lysis Reagent	30 mL
$\beta$ -Mercaptoethanol	300 $\mu$ L
Buffer WB 1	15 mL
Buffer WB 2	15 mL
RNase-Free H <sub>2</sub> O	5 mL
DR Columns	50
RC Columns	50

## 保存条件

常温（15~25℃）保存，保质期 12 个月。

## 注意事项

1. GS Lysis Reagent 在储存时可能会形成沉淀，若有沉淀请 60℃ 水浴加热溶解后使用。
2. GS Lysis Reagent 在使用前应先加入  $\beta$ -Mercaptoethanol 至终浓度为 1%（例如 1 ml GS Lysis Reagent 中加入 10  $\mu$ L  $\beta$ -Mercaptoethanol），加入  $\beta$ -Mercaptoethanol 的 GS Lysis Reagent 可于 4℃ 放置一个月，但现配现用能达到最优使用效果。
3. Buffer WB 1 与 Buffer WB 2 在使用前应按照标签说明加入无水乙醇。
4. 70%乙醇应使用 DEPC 处理水配制。



## 操作步骤

### 1. 收集细胞

1.1 悬浮细胞的收集：细胞计数并转移至新的离心管中，500 g 离心 5 min，收集细胞沉淀，吸弃所有上清。

1.2 贴壁细胞的收集：可在培养容器中直接裂解，或者使用胰蛋白酶处理后离心收集细胞沉淀。 a. 直接裂解法：确定细胞数量，彻底吸弃细胞培养上清，立即进行第 2 步裂解处理。 b. 胰蛋白酶处理法：使用 PBS 洗涤细胞 2 次，吸弃 PBS，胰蛋白酶消化制成细胞悬液，细胞计数并转移至新的离心管中，500 g 离心 5 min，收集细胞沉淀，吸弃所有上清。

**注意：**收集细胞时一定要将细胞培养上清完全去除，否则会导致裂解不充分，影响 RNA 与吸附柱的结合，造成 RNA 的产量降低。

### 2. 裂解处理

2.1 对于直接裂解收集的细胞：按下表加入 GS Lysis Reagent(已加入 $\beta$ -Mercaptoethanol)，将细胞裂解液转移至新的离心管中，涡旋震荡 5 s。

培养皿直径 (cm)	GS Lysis Reagent ( $\mu$ L)
< 6	350
6 ~ 10	600

2.2 对于离心收集的细胞沉淀：轻弹离心管底部，使细胞沉淀松散，按下表加入 GS Lysis Reagent (已加入 $\beta$ -Mercaptoethanol)，涡旋震荡 15 s。

细胞数量 (个)	GS Lysis Reagent ( $\mu$ L)
< $5 \times 10^6$	350
$5 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$	600

3. 将上述溶液转移至 DNA 过滤柱 DR Columns 中，14,000 g 离心 2 min，收集滤液至新的 1.5 mL 离心管中。

4. 向滤液中加入等体积的 70%乙醇，用移液器吹打 3 ~ 5 次以混匀（若有沉淀形成，尽量打散沉淀，并将沉淀和溶液一起加入到 RC Columns 中）。

5. 转移 $\leq 750 \mu$ L 混合液至 RC Columns 中，12,000 g 离心 30 ~ 60 s。



6. 弃去滤液，将柱子装回收集管中，转移剩余的混合液（若有）至柱子中，12,000 g 离心 30 ~ 60 s。
7. 弃去滤液，将柱子装回收集管中，向柱中加入 500  $\mu$ L Buffer WB1（确认已加入乙醇），12,000 g 离心 30 ~ 60 s。
8. 弃去滤液，将柱子装回收集管中，向柱中加入 500  $\mu$ L Buffer WB2（确认已加入乙醇），12,000 g 离心 30 ~ 60 s。
9. 重复步骤 8 一次。
10. 弃去滤液，将柱子装回收集管中，12,000 g 离心 2 min。
11. 将柱子转移至新的 RNase-Free 1.5 mL 离心管中，加入 30 ~ 100  $\mu$ L RNase-Free H<sub>2</sub>O 至柱膜中，室温静置 2 min。
12. 12,000 g 离心 2 min，弃去柱子，得到的 RNA 于 -80 $^{\circ}$ C 保存。



## 常见问题与解决方法

<b>柱子堵塞</b>	
样品用量太多	使用 $\leq 1 \times 10^7$ 个细胞进行提取，过量细胞会降低 RNA 产量和纯度。
裂解液非常粘稠	加大 GS Lysis Reagent 用量，或使用移液器吹打裂解液 5 ~ 10 次。
<b>RNA 降解</b>	
RNase-Free H <sub>2</sub> O 被污染	RNase-Free H <sub>2</sub> O 在室温放置或使用时间长时容易被细菌真菌或 RNase 污染，可将 RNase-Free H <sub>2</sub> O 分装保存使用或更换新的 RNase-Free H <sub>2</sub> O。
未充分裂解	过量细胞或 GS Lysis Reagent 不足会降低裂解效率，容易使 RNA 被内源的核酸酶降解，可减少细胞用量或加大 GS Lysis Reagent 用量。
电泳原因	电泳过程中很容易造成 RNA 的降解，注意使用新的或 RNase-Free 的 Loading Buffer、电泳缓冲液和 H <sub>2</sub> O。
<b>DNA 污染</b>	
gDNA 残留	DR Columns 一般可去除 95 ~ 99% 的 DNA 污染，若 gDNA 残留过多，可增加额外的 DNase I 消化进一步去除 DNA 污染。
<b>RNA 产量低</b>	
洗脱效率低	使用不低于 30 $\mu$ L RNase-Free H <sub>2</sub> O 进行洗脱，并悬空直接加到膜上，加入后室温静置 2 分钟再离心。
样品用量太多	细胞用量太多容易降低裂解效率，从而导致 RNA 产量低，建议减少样品用量。



## 相关产品

产品名称	货号	规格
GENESEED®Blood Genomic DNA Kit	E0103	50 rxns
GENESEED®Blood Genomic DNA Kit	E0104	100 rxns
GENESEED®Magnetic Blood Genomic DNA Kit	E0105	50 rxns
GENESEED®Magnetic Blood Genomic DNA Kit	E0106	100 rxns
GENESEED®Blood RNA Isolation Kit	E0203	50 rxns



扫一扫，了解更多

**广州吉赛生物科技股份有限公司**

Guangzhou Geneseeed Biotech Co.,Ltd.

Tel : 400-8989-400      E-mail : [geneseed@geneseed.com.cn](mailto:geneseed@geneseed.com.cn)