



版本: 2025/06/13

GREENspin超快微量细胞RNA提取试剂盒

GREENspin Micro Cell RNA Extraction kit

Catalog # ZP440

试剂盒组成	ZP440-1 (50次)
裂解液MCG	40 mL
漂洗液RW	15 mL
RNase-free ddH ₂ O	10 mL
微量RNA 吸附柱	50 T
收集管 (2mL)	50 T
说明书	1 份

储存条件: 室温 (15°C-25°C)、避光运输和储存。保质期1年

产品简介

高效的裂解液迅速裂解细胞并灭活细胞RNA酶, 使总RNA在高离子盐状态下选择性吸附于微量吸附柱内硅基质膜, 再通过漂洗步骤将剩余蛋白质和细胞代谢物等杂质去除, 最后低盐的RNase Free H₂O将纯净RNA从硅基质膜上洗脱。本试剂盒可以从 1×10^2 - 5×10^5 个细胞中纯化 RNA, 洗脱的体积低至10 μ l。纯化 RNA 可用于下游应用, 如 RT-PCR、qRT-PCR、Northern 印迹和cDNA 文库构建。

产品特点:

- 便利 — 提取步骤不使用苯酚/氯仿、CsCl 梯度或沉淀 (使用 LiCl 或乙醇)
- 安全 — 不使用有毒的苯酚、氯仿、 β -巯基乙醇等试剂
- 快速 — 通常只需15分钟即可获得高质量的总RNA
- 高效 — 适用于 1×10^2 - 5×10^5 个细胞的RNA提取

操作流程:

准备: 无酶枪头、无酶1.5 mL EP管、2mL吸附柱和收集管、无水乙醇。

1. 细胞裂解

a. 贴壁细胞:

- 1) 直接裂解法: 吸除培养基, 用PBS洗涤一次细胞, 再吸除后, 直接在培养板中加入裂解液MCG, 每5 cm²面积加入500 μ l 裂解液MCG (裂解液MCG完全接触所有细胞即可), 移液器吹打几次, 直至溶液澄清。
- 2) 胰蛋白酶处理法: 吸除培养基, 用PBS洗涤细胞一次, 向细胞中加入含有0.1-0.25% 胰蛋白酶的 PBS 处理细胞。当细胞脱离容器壁时, 加入含有血清的培养基失活胰蛋白酶, 将细胞溶液转移至 RNase-free 的离心管中, 300 g离心5 min/12000 rpm离心10 s, 收集细胞沉淀, 仔细吸除所有上清, 加入500 μ l 裂解液MCG, 立即吹打几次, 直至溶液澄清。

b. 悬浮细胞:

离心收集细胞, 吸除洗涤的PBS后, 加入500 μ l 裂解液MCG, 立即吹打几次, 直至溶液澄清。

**步骤1细胞裂解注意事项:**

- 1) PBS洗涤细胞后, 尽量吸弃全部的PBS残留, 可用200 μ l吸头吸干净一点。
- 2) 细胞中加入裂解液MCG后需要立即吹打混匀, 否则可能出现部分细胞聚集无法消化的现象, 严重影响最终RNA得率。即样品加入裂解液后, 立即吹打裂解。
- 3) 细胞量少于 5×10^2 , 下游实验结果不理想, 可以将裂解产物-80 $^{\circ}$ C放置过夜, 第二天继续实验, 此方式可以提高RNA的回收率。
2. 将裂解产物转入RNA微柱中 (微柱放入收集管中);
3. 室温静置1 min, 12000 rpm离心1 min, 弃掉滤液;
4. 向吸附柱内加入500 μ l漂洗液RW(确认是否已加入无水乙醇), 12000 rpm离心30 s, 弃掉滤液;
5. 重复步骤4;
6. 将吸附柱放回收集管中, 12000 rpm离心2 min;
7. 取出吸附柱, 将其置于干净的1.5ml RNase Free离心管中, 开盖静置2 min, 在柱膜的中间部位加入10-20 μ l RNase Free ddH₂O (最低可至5 μ l, 以提高RNA浓度), 室温放置2 min, 12000 rpm离心1 min, 收集滤液即得细胞样品RNA。

注意事项:

1. 第一次使用前请先在漂洗液RW瓶中加入无水乙醇, 加入量请参见瓶上标签。
2. 裂解液对皮肤有一定刺激性, 操作时要戴乳胶手套及口罩, 避免试剂沾染皮肤、眼睛和衣服。若沾染皮肤、眼睛时, 及时清水冲洗即可。
3. 使用无RNase的试剂耗材避免交叉污染。建议实验室干净整洁, 避免环境RNA酶污染。
4. 所有的离心步骤均在室温完成, 使用转速可以达到13,000 rpm的台式离心机即可。
5. 裂解液和细胞混匀裂解后, 不能及时操作, 可-20 $^{\circ}$ C放置保存, 以后再进行下面的步骤 (裂解产物在-20 $^{\circ}$ C下放置16h, RNA得率会减少20%左右, 但无明显降解); 裂解产物不可长期室温放置 (实验表明, 在37 $^{\circ}$ C下放置1h, RNA发生明显的降解), 样品多时, 可分批或15分钟内往下操作。
6. 关于DNA的微量残留: 本试剂盒独特的裂解液可以清除绝大多数的DNA残留, 不需要DNase额外消化, 可直接用于RT-PCR和qRT-PCR。个别特殊情况如DNA含量过于丰富造成残留或者要进行严格的下游实验, 则可在第3步后进行DNase柱上消化 (ZP430):
 - a. 向柱内浸渍40 μ l DNase I工作液, 室温消化5min (不要离心);
(DNase I工作液配方: 39 μ l DNase Buffer + 1 μ l DNase I, 临用临配)
 - b. 继续加入500 μ l去蛋白液CR, 13,000 rpm离心30 s, 弃废液。