

## RaPure Cell RNA Kit

细胞 RNA 快提试剂盒

### 产品简介

本产品适合于从不超过 $3 \times 10^6$ 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 x 125
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：202401

### 保存条件

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

## 实验步骤

1. 离心收集不超过  $3 \times 10^6$  个细胞样品，加入 100 $\mu$ l Buffer PBS，涡旋重悬细胞。
2. 加入 500 $\mu$ l Buffer CRL，涡旋混匀 10~15 秒，静置 1~3 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 $\mu$ l Buffer EW 至柱子中，12,000  $\times$  g 离心 30~60 秒。
5. 倒弃滤液，把柱子装回收集管。加入 300 $\mu$ l Buffer EW 至柱子中，12,000  $\times$  g 离心 2 分钟。  
转移柱子时不要碰到底部的液体，若碰到底部的液体，倒弃滤液再离心 1 分钟。
6. 将柱子转移至 1.5ml 离心管，加入 50~80 $\mu$ 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。  
当 RNA 总量高于 10 $\mu$ g 时，OD<sub>260/230</sub> 一般都在 1.3-2.2；当 RNA 总量在 5~10 $\mu$ g 时，A<sub>260/230</sub> 会在 0.7~2.0；当 RNA 总量低于 3 $\mu$ g，A<sub>260/230</sub> 会低于 0.6。这是因为 Buffer CRL 含异硫氰酸胍，以及玻璃滤膜有吸水性或本底吸附。异硫氰酸胍在 230nm 有强烈吸光值，因此 A<sub>260/230</sub> 主要受该胍盐影响，而不是来源于样品。研究表明，低浓度异硫氰酸胍不影响反转录，定量 RT-PCR，二代测序等相关应用。出现 260/230 在 0.2-1.0 时，可以忽略并直接用于反转录等下游应用。在不堵塞柱子的情况下，适量提高样品用量和裂解液用量，提高核酸浓度（核酸总量 > 10 $\mu$ g）时，OD<sub>260/230</sub> 可以明显改善。
7. 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. 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。

