



S6 HiPer Universal RNA Mini Kit 组织/细胞RNA 快速提取试剂盒

使用说明书

产品名称	单位	货号
S6 HiPer Universal RNA Mini Kit	50T	S6036-01
S6 HiPer Universal RNA Mini Kit	4x50T	S6036-04

【储存条件】 常温保存，组分若有沉淀，请于 37°C 水浴加热，待恢复澄清后使用。

【产品简介】

本试剂盒采用独特的裂解液迅速裂解细胞和灭活细胞中的 RNA 酶，使用乙醇调节结合条件后，RNA 会在高离子盐状态下选择性吸附于离心柱内硅基质膜，去蛋白液和漂洗液通过一系列快速的漂洗—离心步骤将细胞代谢物、蛋白等杂质去除，最后使用低盐的 RNase-Free H₂O 将纯净的 RNA 从硅基质膜上洗脱。

【产品特点】

1. 离心吸附柱内硅基质膜全部采用特制吸附膜，柱与柱之间吸附量差异极小，可重复性好。
2. 不需要苯酚，氯仿等试剂，也不需要乙醇沉淀，快速方便，一般可在 30 分钟内完成。
3. 多次柱漂洗确保高纯度，OD₂₆₀/OD₂₈₀ 典型的比值达 2.0-2.2。基本无 DNA 残留，可用于 RT-PCR，Northern-blot 和各种实验。

【产品组份】

	50T	注意事项
裂解液 RLT	30ml	室温密闭干燥保存
去蛋白液 RW1	40ml	室温密闭干燥保存
漂洗液 RW	10ml	初次使用前请按瓶标说明加入指定量的无水乙醇
RNase-Free H ₂ O	10ml	室温密闭干燥保存
基因组 DNA 清除套管	50 套	室温密闭干燥保存
RNase-Free 吸附套管 (RA)	50 套	室温密闭干燥保存

【注意事项】

1. 所有的离心步骤均在室温完成（4°C 离心也可以），使用转速可以达到 13,000 rpm 的传统台式离心机。
2. 需要自备乙醇（尽量新开封或者 RNA 专用）、一次性注射器、研钵。
3. 裂解液 RLT 和去蛋白液 RW1 中含有刺激性化合物，操作时要戴乳胶手套，避免沾染皮肤，眼睛和衣服。若沾染皮肤、眼睛时，要用大量清水或者生理盐水冲洗。
4. 预防 RNase 污染，应注意以下几方面：
 - 1) 经常更换新手套。因为皮肤经常带有细菌，可能导致 RNase 污染。
 - 2) 使用无 RNase 的塑料制品和枪头避免交叉污染。
 - 3) RNA 在裂解液 RLT 中时不会被 RNase 降解。但提取后继续处理过程中应使用不含 RNase 的塑料和玻璃器皿。玻璃器皿可在 150°C 烘烤 4 小时，塑料器皿可在 0.5 M NaOH 中浸泡 10 分钟，然后用水彻底清洗，再灭菌，即可去除 RNase。
 - 4) 配制溶液应使用无 RNase 的水。（将水加入到干净的玻璃瓶中，加入 DEPC 至终浓度 0.1% (v/v)，37°C 放置过夜，高压灭菌。）
5. 关于 DNA 的微量残留：

一般说来任何总 RNA 提取试剂在提取过程中无法完全避免 DNA 的微量残留，本产品采取了独特的缓冲体系和选择了特殊吸附能力的吸附膜，在大多数 RT-PCR 扩增过程中极其微量的 DNA 残留（一般电泳 EB 染色紫外灯下观察不可见）影响不是很大，如果要进行严格的 mRNA 表达量分析如荧光定量 PCR，我们建议在进行模板和引物的选择时：

 - 1) 选用跨内含子的引物，以穿过 mRNA 中的连接区，这样 DNA 就不能作为模板参与扩增反应。
 - 2) 选择基因组 DNA 和 cDNA 上扩增的产物大小不一样的引物对。
 - 3) 将 RNA 提取物用 RNase-Free 的 DNase I 处理。本试剂盒还可以用于 DNase I 处理后的 RNA 清洁 (cleanup)，请

联系我们索取具体操作说明书。

4) 在步骤去蛋白液 RW1 漂洗前, 直接在吸附柱 RA 上进行 DNase I 处理。请联系我们索取具体操作说明书。

6. RNA 纯度及浓度检测:

完整性: RNA 可用普通琼脂糖凝胶电泳(电泳条件: 胶浓度 1.2%; 0.5×TBE 电泳缓冲液; 150v, 15 分钟)检测完整性。由于细胞中 70%-80%的 RNA 为 rRNA,

电泳后 UV 下应能看到非常明显的 rRNA 条带。动物 rRNA 大小分别约为 5 kb 和 2kb, 分别相当于 28S 和 18S rRNA。动物 RNA 样品中最大 rRNA 亮度应

为次大 rRNA 亮度的 1.5-2.0 倍, 否则表示 RNA 样品的降解。出现弥散片状或条带消失表明样品严重降解。

纯度: OD260/OD280 比值是衡量蛋白质污染程度的指标。高质量的 RNA, OD260/OD280 读数(10mM Tris, pH7.5)在 2.1-2.2 之间(100%纯的 RNA 比值一般

是 2.2 左右, 很多公司无法达到这个标准, 所以 1.9-2.0 就凑合用了, 但是我们的产品标准一般可以达到 2.1-2.2)。OD260/OD280 读数受测定所用溶液的 pH 值

影响。同一个 RNA 样品, 假定在 10mM Tris, pH7.5 溶液中测出的 OD260/OD280 读数 1.8-2.1 之间, 在水溶液中所测读数则可能在 1.5-1.9 之间, 但这并不

表示 RNA 不纯。浓度: 取一定量的 RNA 提取物, 用 RNase-Free 水稀释 n 倍, 用 RNase-free 水将分光光度计调零, 取稀释液进行 OD260, OD280 测定,

按照以下公式进行 RNA 浓度的计算: 终浓度 (ng/μl) = (OD260) × (稀释倍数 n) × 40。

【操作步骤】

<实验前请先阅读注意事项, 第一次使用前请先在漂洗液 RW 瓶中加入指定量的无水乙醇!>

1. 培养细胞

A1. 贴壁细胞: 不需消化, 彻底吸干净培养液体后直接加推荐量裂解液RLT(见附录一)反复吹打细胞裂解(裂解后直接接

操作步

项3); 不方便直接裂解的培养容器, 可以用细胞刮子刮下细胞, 或者胰蛋白酶消化后吹打下来收集细胞到1.5ml 离心

管。
A2. 悬浮细胞: 收集 $<10^7$ 悬浮细胞到一个1.5ml 离心管。

B. 13000rpm 离心10 秒(或者300g 离心5 分钟), 使细胞沉淀下来。完全吸弃上清, 留下细胞团, 注意不完全弃上清会

稀释裂解液
导致产量纯度降低。

C. 轻弹离心管底部, 使细胞沉淀松散, 加350 μl (5×10^6 细胞)或600 μl (5×10^6-1×10^7 细胞)裂解液RLT, 用移液器反

裂解(直到看不细胞团为止)。

D. 立刻接操作步

项下3。

2. 动物组织(例如鼠肝脑)

A1. 匀浆器匀浆: 新鲜组织加入350 μl (<math><20\text{mg}</math> 组织)或者600 μl (20-30mg 组织)的裂解液RLT 后玻璃匀浆器或电动匀浆器将组

织彻底研磨匀浆。

A2. 液氮研磨+匀浆: 在液氮中研磨组织成细粉后, 取适量组织细粉(20mg/30mg)转入装有350 μl/600 μl 组织裂解液RLT 的1.5ml

离心管中, 剧烈振荡20 秒, 难裂解样品可用移液器反复吹打匀浆。

注意: 若研磨匀浆后不溶物碎片太多, 将匀浆后裂解物13000rpm 离心3 分钟去除碎片或者不溶物。将上清液转移到新的1.5ml 离心管内。

B. 立刻接操作步

项下3。

3. 较精确估计裂解物(上清)体积, 加入0.5 倍体积的无水乙醇, 可能出现沉淀, 但不影响提取过程, 立即吹打混匀, 不要离心。

4. 将混合物(每次小于720 μl, 多可以分两次加入)加入一个吸附柱RA 中, 吸附柱放入收集管中, 13000 rpm 离心30 秒, 弃掉废液。

5. 加入700 μl 去蛋白液RW1, 室温放置30 秒, 13000rpm 离心30 秒, 弃掉废液。

6. 加入500 μl 漂洗液RW(请先检查是否已加入无水乙醇), 13000 rpm 离心30 秒, 弃掉废液。加入500 μl 漂洗液 RW, 重复一遍。

7. 将吸附柱RA 放回空收集管中, 13,000 rpm 离心2 分钟, 尽量除去漂洗液, 以免漂洗液中残留乙醇抑制下游反应。

8. 取出吸附柱RA, 放入一个干净1.5ml 离心管中(自备, 离心时稍微错开斜放盖子, 以便能带着盖子离心), 根据预期 RNA 产量在

吸附膜的中间部位加30-50 μl RNase-Free H₂O, 室温放置1 分钟。1,3,000 rpm 离心1 分钟得到RNA 溶液。洗脱缓冲液体积不应少于30 μl(体积过小影响回收效率)。将离心得到的RNA 溶液加回到吸附柱重复洗脱一遍可以提高RNA 浓度。

附录一：贴壁培养细胞数量表（注：一般情况下，3.5cm 直径培养皿或者更小培养容器加350 μ l 裂解液RLT，6cm 直径培养皿或者更

大培养容器加 600 μ l 裂解液 RLT。最大处理量不超过 10^7 个细胞。）

培养器皿	底面积 (cm ²)	加培养液量 (mL)	可获细胞量
24 孔培养板	2	1.0	5×10^5
6 孔培养板	9.6	2.5	2.5×10^6
3.5cm 培养皿	8	3.0	2.0×10^6
6cm 培养皿	21	5.0	5.2×10^6
25cm 塑料培养瓶	25	5.0	5.2×10^6
100ml 玻璃培养瓶	33	10.0	7×10^6

