ZOMANBIO
庄盟生物
www.zomanbio.com

Toll-free:400-611-2007
Order:010-62617225 62979301
Email:zomanbio@126.com
Http://www.zomanbio.com

版 本：2025/12/05

GREENspin
微量动物组织/细胞RNA提取试剂盒
GREENspin Micro Animal Tissue/Cell Total RNA Kit
Catalog # ZP442

试剂盒组成	ZP442-1 50T
裂解液TCR	20ml
50×DTT	400μl×2
Proteinase K(20mg/ml)	0.5ml
去蛋白液CR	20ml
漂洗液RW	15ml
RNase-free ddH_2O	10ml
gDNA过滤柱	50T
微量RNA吸附柱	50T
2ml收集管	100T
说明书	1份

储存条件：

室温保存一年以上。试剂盒附带的50×DTT 、Proteinase K 4°C运输和-20°C保存；其它组分室温运输和保存。

适用范围

动物组织、培养细胞。

自备材料

无水乙醇、1.5ml RNase-free离心管、RNase-free枪头等。

产品介绍

本产品可从低至ng级的微量动物组织和10^2个细胞中提取总RNA。独特的裂解液迅速裂解样本并灭活RNA酶，裂解产物通过gDNA过滤柱有效地去除杂质和gDNA，滤液中的RNA经过乙醇调节上柱条件，高效地结合到RNA微量吸附柱，洗脱体积低至10μl。得到的总RNA纯度高，gDNA残留少，无蛋白和其他杂质污染，可用于RT-PCR、Real-Time PCR、芯片分析等多种下游实验。

产品特点：

- 绿色无毒：避免使用有毒的苯酚、氯仿等试剂。
- 操作简捷：提取步骤少，可在10min内完成单个样品RNA的提取。
- 基因组残留少：独特的gDNA过滤柱可以有效地去除杂质和gDNA，无需DNase I柱上消化。
- 高灵敏度：低起始样本也能高效捕获 RNA。

注意事项：

1. 试剂盒首次使用前，请按照瓶上标签在漂洗液RW中加入无水乙醇，并标注。
2. 使用前请检查溶液中是否有晶体析出，如有，请放置于42℃水浴，直至晶体完全溶解。
3. 常规实验操作，动物组织样品应小于10mg，纤维组织应小于30mg，培养细胞数量应小于1×10^6，肝脏、肾脏等核酸含量丰富的组织，样品量不超过5mg，否则可能导致gDNA残留、堵柱或者纯度下降。
4. 组织样本，建议采用液氮研磨；若采取匀浆处理，应注意匀浆充分，否则会降低RNA产量，匀浆过程中为防止RNA的降解，应避免升温。
5. 建议使用新鲜样本，若不能及时提取，应将样本冻存在-80℃或者液氮中，并避免反复冻融；或者将样本在裂解液TCR中匀浆，置于-80℃保存。
6. 按照RNA提取实验要求，保持RNase-free的环境，所有试剂耗材均需RNase-free。
7. 所有操作，均在常温下进行。

电话：010-62617225 62979301 Email：zomanbio@126.com

操作流程：

首次使用试剂盒：

1. 请按照瓶上标签在漂洗液RW中加入无水乙醇，并标注。
2. 每1ml裂解液TCR中加入20μl的50×DTT。此时裂解液TCR可以在室温下放置2个月，4°C可以放置1年；为确保更好的提取效果，也可在6个月后，补加同等体积的50×DTT。

裂解样本

动物组织

a. 组织匀浆：取小于10mg组织，加入300μl裂解液TCR，用一次性研磨棒或者电动匀浆器进行匀浆，直至无明显的组织团块。

注：1.建议冰上匀浆，避免升温导致RNA降解。

2.匀浆后碎片过多不能完全溶解，可12,000rpm离心2min后，吸上清继续RNA提取步骤。

b. 液氮研磨：取小于10mg组织，加入液氮预冷好的研钵中研磨，研磨过程中要保持一定的液氮。将研磨好的粉末加入到300μl裂解液TCR，涡旋振荡直至粉末完全消失。

▲裂解后的样本转入RNA提取步骤，或者置于-80°C保存，后续再转入RNA提取。

纤维组织

取小于30mg组织(如肌肉、尾等)，将研磨好的粉末（采取液氮研磨），加入300μl裂解液TCR，涡旋振荡直至粉末完全消失。加入190μl RNase-free H_2O，加入10μl Proteinase K，涡旋混匀5s，55°C下水浴10min。

▲裂解后的样本转入RNA提取步骤，或者置于-80°C保存，后续再转入RNA提取。

培养细胞

a. 贴壁细胞：吸弃培养基后，直接加入适量的裂解液TCR(能够完全覆盖细胞，加入量最少200μl)，枪头吸打直至细胞完全消化；或者用胰酶消化后离心收集细胞，吸弃上清，加入裂解液TCR，枪头吸打直至细胞完全消化。

举例：24孔板底面积为2cm^2，每孔加入300μl裂解液TCR；96孔板底面积为0.32cm^2，每孔加入200μl裂解液TCR。

b. 悬浮细胞：离心收集细胞，吸弃上清，加入300μl裂解液TCR，枪头吸打直至细胞完全消化。

注：细胞数量不超过1x10^6。

▲裂解后的样本转入RNA提取步骤，或者置于-80°C保存，后续再转入RNA提取。

RNA提取

1. 将裂解后的样本加入到gDNA过滤柱中(gDNA柱放入收集管中)，12,000 rpm离心1min，弃掉gDNA过滤柱，保留滤液。
2. 计量滤液体积，向滤液中加入0.5倍体积的无水乙醇(肝组织样本，加入1倍滤液体积的50%乙醇)，充分混匀。

注:一般情况下，滤液体积即为样本裂解使用的裂解液TCR体积；若存在堵柱等没有完全过滤的情况下，需准确计量滤液体积。配制50%乙醇时，使用试剂盒提供的RNase-free ddH_2O配制即可(500μl乙醇+500μlddH_2O)。

3. 混合液加入到微量RNA吸附柱中(RNA柱放入收集管中)，12,000 rpm离心1min，弃滤液。
4. 向吸附柱加入350μl 去蛋白液CR，12,000 rpm离心10 sec，弃滤液。
5. 向吸附柱加入500μl 漂洗液RW，12,000 rpm离心10 sec，弃滤液。
6. 重复步骤5。
7. 将吸附柱放回收集管中，12,000 rpm空离心2min。
8. 取出吸附柱，放入一个新的RNase-free 1.5ml离心管中，在柱膜的中间部位悬空滴加10-20μl的RNase-free ddH_2O，室温静置1min，12,000 rpm离心1min。

注:如果RNA得率不理想，可尝试以下的方式提高RNA的回收效率:

a) RNase-free ddH_2O 65℃预热；
b) 延长静置时间至2-5min；
c) 进行二次洗脱。

9. 弃吸附柱，洗脱的Total RNA，可直接用于下游实验或者-80℃保存。

DNase I柱上消化（可选）

本试剂盒中的gDNA过滤柱可以清除绝大多数的DNA残留。一些实验如果需要完全清除残留的DNA，如RT-qPCR实验，可以选择去基因组反转录试剂盒，设计跨内含子的引物，或者可在RNA提取步骤4后，进行DNase I柱上消化:

1. 向柱内悬滴50μl DNase I工作液，室温消化5min(不要离心)。
(DNaseI工作液配方:48μl DNase Buffer+2μl DNase I，临用临配)
2. 继续加入350μl去蛋白液RW1，12,000rpm离心30s，弃废液。
3. 继续RNA提取步骤5。

电话:010-62617225 62979301 Email:zomanbio@126.com