安全

RL Solution 含有对皮肤腐蚀和刺激性物质(苯酚)，如接触，请尽快用大量清水冲洗。并且，提取过程用到氯仿，因此，注意在通风环境中使用。

保存

短时间（1 个月内），可室温保存。每次用完 RL Solution 后，注意旋紧盖子，避免发生氧化。长时间建议 4 °C 冷藏保存，或仅将 RL Solution 旋紧盖子后存于 4 °C 环境。

保质期:　3 年

Cat #. 082009

Cell nucleus and cytoplasm

RNA Isolation Handbook

For Research Use Only

(25)

试剂盒说明:

适用于分离提取细胞核与细胞质总 RNA。

前期提取步骤，可使用普通容器和耗材（包括离心管、枪头等），无需无 RNA 酶化处理；可仅在最后收集步骤，使用无 RNase 枪头和离心管，收集和保存 RNA。

试剂盒成分:

1、PS Buffer （30ml）： 细胞核质分离液

2、RL Solution （30ml）：组织裂解液

*使用后旋紧盖子，避免发生氧化；可于 4 °C 长期保存

3、Wash Buffer （30ml）：提取清洗液

** 请在使用前加入 70ml 无水乙醇，总体积达到 100ml

4、ddH_2O（RNase and DNase Free）

自备试剂:

1、氯仿

2、无水乙醇

一. 细胞核与细胞质分离步骤:

1、收集细胞($5 X 10^{2-8}$个)，1000 转离心 5min 弃上清（上清倒干净），加入 300μl PS Buffer，轻微重悬细胞（震荡或吹打，注意不要过于激烈，保证细胞尽可能充分重悬），冰上放置 20min（PS Buffer 可让细胞膜破裂，而保持细胞核完整；加入 PS Buffer 重悬细胞后，如见絮状物，是细胞核与膜碎屑混合物，属正常情况）。

2、1000 转 4 °C 离心 5min，上清液即为细胞质提取液，小心吸取上清液于新的 1.5ml 离心管中，标注为**细胞质分离液**，用于提取细胞质 RNA。

3、步骤 2 中，带沉淀部分的离心管，加入 500μl PS Buffer，颠倒离心管 4-5 次，1000 转 4 °C 离心 5min，弃上清，保留沉淀；再加入 300μl PS Buffer，重悬沉淀（震荡或枪头吹打，保证充分重悬），标注为**细胞核分离液**，用于提取细胞核 RNA。

二. RNA 提取步骤:

4、步骤 2 获得的**细胞质分离液**，取 200μl 于新的 1.5ml 离心管中，加入 500μl RL Solution，充分混匀，获得细胞质裂解液；同时，步骤 3 获得的**细胞核分离液**，取 200μl 于新的 1.5ml 离心管中，加入 500μl RL Solution，充分混匀，获得细胞核裂解液。

5、两种裂解液分别加入 40μl 氯仿，充分混匀，12000 转 4 °C 离心 10min。

6、小心吸取上清 200-300μl 于新的 1.5ml 离心管中（避免吸入杂质），加入等体积无水乙醇，充分混匀。

7、将混匀液吸入 Spin column 管中，12000 转 4 °C 离心 1min，弃滤液。

8、加入 600μl Wash Buffer，12000 转 4 °C 离心 1min，弃滤液。

9、重复步骤 8。

10、小心取出 Spin column（避免沾上滤出液），放入新的无 RNA 酶 1.5ml 离心管中。

11、吸入 50μl ddH_2O（RNase and DNase Free），室温放置 1-2min 后，12000 转 4 °C 离心 1min，收集滤液，获得总 RNA。

注意:

1、一般情况下，细胞质富含 RNA，细胞核 RNA 含量相对较少，细胞质与细胞核提取 RNA 量的比例在 8-15:1 之间，注意观察提取情况。

2、RNA 提取的步骤 10 以后，必须用无 RNA 酶的枪头和离心管；之前步骤可用普通容器、耗材。

3、样品保存：如需保存样品，RNA 提取步骤 4 加入 RL Solution 裂解液混匀后，暂时或长期存放于-20 °C（-80 °C 更佳），RNA 可保存完好，保存期可达 1-2 年。