



Toll-free:400-611-2007

Order:010-62617225 62979301

Email:zomanbio@126.com

Http://www.zomanbio.com



版本：2025/08/19

GREENspin

超快动物组织/细胞RNA提取试剂盒

GREENspin Fast Animal Tissue/Cell Total RNA Kit

Catalog # ZP441

试剂盒组成	ZP441-1 50T	ZP441-2 100T
裂解液TCR	40ml	80ml
50×DTT	800μl×2	800μl×4
去蛋白液CR	40ml	80ml
漂洗液RW	15ml×2	15ml×4
RNase-free ddH ₂ O	10ml	20ml
gDNA过滤柱	50T	100T
RNA吸附柱	50T	100T
2ml收集管	100T	200T
说明书	1份	1份

储存条件：

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

实验室使用，仅用于科研

北京庄盟国际生物基因科技有限公司
Beijing Zoman Biotechnology Co.,Ltd.



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

本产品用于从动物组织、细胞提取总RNA。独特的裂解液TCR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吸附柱，经过漂洗和洗脱，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：避免了使用酚/氯仿等有毒有害试剂。
- 操作便捷：提取步骤少，整个操作流程仅需10min。

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，动物组织样品应在10mg-30mg，培养细胞数量应在 5×10^5 - 5×10^6 ，肝脏、肾脏等核酸含量丰富的组织，肌肉、心脏等富含肌纤维的组织，样品量不超过10mg，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。

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20 μ l的50 $\times$ DTT。此时裂解液TCR可以在室温下放置2个月,4 $^{\circ}$ C可以放置1年;为确保更好的提取效果,也可在6个月,补加同等体积的50 $\times$ DTT。

裂解样本

动物组织

- a. 组织匀浆:取10-30mg组织,加入500 μ l裂解液TCR(肝组织加入350 μ l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:建议冰上匀浆,避免升温导致RNA降解。

- b. 液氮研磨:取10-30mg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500 μ l裂解液TCR(肝组织加入350 μ l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 $^{\circ}$ 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,每5cm²面积加入500 μ l裂解液TCR),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:6孔板底面积为9.6cm²,每孔加750 μ l裂解液TCR;12孔板底面积为4.5cm²,每孔加入500 μ l裂解液TCR。

- b. 悬浮细胞: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。

注:每 $<5 \times 10^6$ 个细胞中加入500 μ l裂解液TCR。

▲裂解后的样本转入RNA提取步骤,或者置于-80 $^{\circ}$ 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。



- 3. 混合液(每次小于750μl,分多次加入)加入到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700μl 去蛋白液CR, 12,000 rpm离心30 sec,弃滤液。
- 5. 向吸附柱加入700μl 漂洗液RW, 12,000 rpm离心30 sec,弃滤液。
- 6. 向吸附柱加入500μl 漂洗液RW, 12,000 rpm离心30 sec,弃滤液。
- 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50-200μl的RNase-free ddH₂O,室温静置1min, 12,000 rpm离心1min。
注:如果RNA得率不理想,可尝试以下方式提高RNA的回收效率:
 - a) RNase-free ddH₂O 65°C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°C保存。

Q&A

问题	可能原因	解决方案
RNA降解	样本保存不当	选择新鲜或未反复冻融的样本
	样本选择不当	海洋动物组织如比目鱼、蛤蜊等提取效果不佳
	电泳环境污染	确保电泳槽、琼脂糖凝胶和缓冲液等进行RNase-free处理
	洗脱液污染	更换新的RNase-free ddH ₂ O
gDNA污染	样本投入量过多	样本投入量不超过说明书要求的量,富含DNA的组织如肝脏等需减少样本量
	研磨仪处理样本	实验发现,研磨仪处理液氮冷冻后的样本,可能会导致DNA的残留
	下游实验要求严格	采用DNase I柱上消化(ZP430)
吸附柱堵塞	样本投入量过多	减少样本投入量,适当增加裂解液TCR量
	样本富含肌纤维	适当增加裂解液TCR量,采用液氮研磨,并增加研磨精细度
	研磨/匀浆不充分	充分研磨/匀浆,或者先12,000 rpm离心5min,取上清上柱
RNA产量低	研钵投入量过少	增加样本投入量,或者增加洗脱效率
	研磨/匀浆不充分	充分研磨/匀浆,延长裂解时间
	洗脱不当	RNase-free ddH ₂ O应加至吸附柱膜上;增加洗脱效率
RNA纯度低	盐离子残留	沿吸附柱管壁四周加入加入漂洗液RW,或者增加1次漂洗步骤
	乙醇未挥发完全	提取步骤8,将吸附柱放入到离心管后,开盖放置2min,充分发挥掉乙醇