



磁珠法总RNA提取试剂盒(单条孔)

目录

1. 产品介绍.....	1
2. 注意事项.....	1
3. 使用流程.....	1
4. 订购信息.....	2

1. 产品介绍

磁珠法总RNA提取试剂盒,为客户提供一套从动物组织、植物组织、培养细胞、细菌中纯化完整、高质量总RNA。试剂盒采用独特的缓冲液系统,快速裂解细胞,沉淀蛋白,再经过醇介导将核酸分子结合于纳米磁珠表面,再经DNA酶I处理去除基因组DNA,最终得到纯度高,完整性好的总RNA。可用于RT-PCR、Real-Time PCR、芯片分析、Northern杂交等多种下游实验。

试剂名称	48 T
RNA裂解液	10ml
β-巯基乙醇	400μl
RNA中和液	20ml
DNase I 缓冲液	2.3ml
DNase I	250μl
MagET™ 总RNA预分装试剂条	16*3
无核酸酶水	5ml
MagET™ 洗脱管	48
MagET™ 4孔磁棒套	2*6

2. 注意事项

- 2.1 使用前检查各组分是否出现沉淀。若有,请轻轻摇晃混合均匀,或37°C水浴重新溶解。
- 2.2 β-巯基乙醇请4°C保存,使用前在RNA裂解液中加入400μl的β-巯基乙醇至终浓度为4%,加入β-巯基乙醇的RNA裂解液于4°C保存,有效期6个月。
- 2.3 戴一次性干净手套和口罩操作,防止皮肤、唾液和实验室用品上存在的RNase污染。
- 2.4 使用无菌无RNase的塑料制品和枪头。。
- 2.5 若使用玻璃器皿须经过0.1% DEPC水在37°C下浸泡12小时,然后经过 121°C高压灭菌30分钟,烘干后使用。
- 2.6 配制相关的试剂必须使用经过121°C高压灭菌的0.1% DEPC水。

3. 使用流程

3.1 样本预处理

3.1.1 组织样品

取 10-20mg 动物组织,置于液氮中快速研磨成粉末,立即加入 200μl RNA 裂解液(已加入β- 巯基乙醇),也可将组织置于离心管中,迅速加入 200μl RNA 裂解液(已加入β- 巯基乙醇),用普通玻璃匀浆器或者电动匀浆器将组织彻底研磨均匀。

3.1.2 细胞样品

收集 2-5×10⁶ 个细胞。

对于贴壁细胞,吸弃培养液,加入 200μl RNA 裂解液(已加入β- 巯基乙醇)。用移液器反复吹打混匀直至细胞团消化不见为止,转移到干净的离心管内。

对于悬浮细胞: 5000rpm (~3056×g) 离心 5min,吸弃培养液,收集细胞,每 2-5×10⁶ 个细胞加入 200μl RNA 裂解液(已加入β- 巯基乙醇)。用枪头反复吹打混匀直至看不到细胞团为止。

3.1.3 植物组织样品

将液氮研磨好的粉末立即转移到 RNA 裂解液中,按照每 10-20mg 加入 200μl RNA 裂解液(已加入β- 巯基乙醇),用移液器吹打均匀至无明



显的粉末团。

3.1.4 细菌样品

用 100 μ l 新鲜配制的含溶菌酶的 TE 缓冲液重悬细菌沉淀。革兰氏阳性细菌可使用 3mg/ml(终浓度)的溶菌酶,轻轻混匀,室温孵育 5-10min,加入 200 μ l RNA 裂解液(已加入 β -巯基乙醇),用枪头吹打混匀;革兰氏阴性细菌则采用 0.4mg/ml(终浓度)的溶菌酶,轻轻敲打混匀,室温孵育 3-5min。加入 200 μ l RNA 裂解液(已加入 β -巯基乙醇),用枪头吹打混匀。

3.2 自动化法提取 -MagET™ Smart 8

3.2.1 向 3.1 处理好的样品匀浆液中加入 400 μ l RNA 中和液,混匀。室温放置 3-5min。如果动物组织样品来源比较珍贵,可以选择裂解物加入 RNA 中和液后,置于 70°C 加热 5min,提高 RNA 得率。

3.2.2 室温,12,000rpm(\sim 13,400 \times g)离心 1min,小心吸取上清液备用。

3.2.3 按如下比例配制 DNase I 反应混合液,并轻轻混匀。

试剂名称	50 μ l	50 μ l \times n
DNase I 缓冲液	45 μ l	45 μ l \times n
DNase I	5 μ l	5 μ l \times n

注: n 为样品个数

3.2.4 取出 MagET™ 总 RNA 预分装试剂条,颠倒混匀数次使磁珠重悬,轻甩 MagET™ 总 RNA 预分装试剂条使试剂及磁珠集中到试剂条底部。
注: 使用前小心撕去铝箔封口膜,避免 MagET™ 总 RNA 预分装试剂条剧烈振动,防止液体溅出。

3.2.5 将 50 μ l 的 DNase I 反应混合液加入到 MagET™ 总 RNA 预分装试剂条的第 3 孔内。

3.2.6 在 MagET™ 总 RNA 预分装试剂条的第 2 孔中加入 3.2.2 的全部上清液,将 MagET™ 总 RNA 预分装试剂条置于 MagET™ Smart 8 的试剂盒支架上。

3.2.7 用移液器准确吸取 100 μ l 无核酸酶水,加入到 MagET™ 洗脱管中,将 MagET™ 洗脱管安装于 MagET™ Smart 8 的试剂盒支架上,将试剂盒支架安装于 MagET™ Smart 8 设备底座上。注: 请在加样后 1 h 内上机运行程序。

3.2.8 将 MagET™ 4 孔磁棒套插入 MagET™ Smart 8 的磁棒套架卡槽内。

3.2.9 选择程序并运行,自动化程序结束后,取下 MagET™ 4 孔磁棒套丢弃,拿出试剂盒支架,取下 MagET™ 洗脱管,盖上管盖,即得总 RNA 产物。如不能及时进行下游试验,RNA 样本可短期保存于 -80°C。

表1. MagET™ Smart 8 程序设定

流程	工作孔位	名称	时长	幅度	频率	磁吸时间	转移等待	温度	加热时间
1	1	取磁珠	1min	最大	最快	60s	0	-	0
2	2	结合	5min	较大	较快	90s	0	-	0
3	3	孵育	15min	较小	较慢	60s	0	-	0
4	4	洗杂	1min	较大	较快	60s	0	-	0
5	5	洗杂	1min	较大	较快	60s	0	-	0
6	6	洗脱	5min	较大	较快	120s	0	-	0
7	1	弃磁珠	1min	最大	最快	0	0	-	0

4. 订购信息

产品名称	货号	规格
磁珠法总RNA提取试剂盒(单条孔)	BK0019-t	8 T
	BK0019-01	48 T