



磁珠法总RNA提取试剂盒(预分装)

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、高质量的总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	64 T
RNA裂解液	14ml
β-巯基乙醇	600μl
RNA中和液	27ml
DNase I 缓冲液	3ml
DNase I	320μl
MagET™ 总RNA预分装试剂板	1*4
MagET™ 8孔磁棒套	2*4

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560μl 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,置于液氮中迅速研磨成粉末,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)。用枪头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

将液氮研磨好的植物粉末立即转移到 RNA 裂解液(已加入β- 巯基乙醇)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 100µl 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 200µl 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 200µl 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 16

3.2.1 向 3.1 处理好的样品匀浆液中加入 400µl 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 (~13,400×g) 离心 1min,小心吸取上清液到新的 1.5ml 无核酸酶的 EP 管中。

3.2.3 取出 MagET™ 总 RNA 预分装试剂板,颠倒混匀数次使磁珠重悬,轻用 MagET™ 总 RNA 预分装试剂板使试剂及磁珠集中到孔板底部。注:使用前小心撕去铝箔封口膜,避免 MagET™ 总 RNA 预分装试剂板剧烈振动,防止液体溅出。

3.2.4 按如下比例配制 DNase I 反应混合液,并轻轻混匀。

试剂名称	50 µl	50 µl×n
DNase I 缓冲液	45 µl	45 µl×n
DNase I	5 µl	5 µl×n

3.2.5 将 50µl DNase I 反应混合液加入到 MagET™ 总 RNA 预分装试剂板的第 3, 9 列内。

3.2.6 在 MagET™ 总 RNA 预分装试剂板的第 2, 8 列中加入 3.2.2 的全部上清液,将 MagET™ 总 RNA 预分装试剂板置于 MagET™ Smart 16 的底座上。注:请在加样后半小时内上机运行程序。

3.2.7 将 MagET™ 8 孔磁棒套插入 MagET™ Smart 16 的磁棒套架卡槽内。

3.2.8 选择程序并运行,自动化程序结束后,取下 MagET™ 8 孔磁棒套丢弃,拿出 MagET™ 总 RNA 预分装试剂板,使用移液器取出第 6,12 列样品于新的离心管中,即得总 RNA 产物。如不能及时进行下游试验,总 RNA 样本可短期保存于 -80°C。

表1. MagET™ Smart 16 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	90s	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(预分装)	BK0023-01	64 T