

# 操作手册

## RNA 提取试剂盒 ( 磁珠法 )

Catalog No. TB210-32 (32 次反应)

TB210-96 (96 次反应)

### Highlights

- 适用于从细胞，组织，酵母菌，植物，细菌或生物液体（任何 TRIZOL 或类似产品可以裂解的样品）及保存在样本保存液中的样品提取到总 RNA（含 microRNA）。
- 无需进行相分离，无需使用氯仿，无需沉淀过程。
- 提取到的 RNA 不含 DNA,并可应用于 Q-PCR，高通量测序等实验。

## 产品组成:

试剂盒组成	保存	32 次	96 次
TRIcom(选配)	4°C	50 ml	150 ml
磁珠 DNA/RNA 洗涤液 1	室温	15 ml	45 ml
磁珠 DNA/RNA 洗涤液 2	室温	10 ml	30 ml
无 DNA 酶/RNA 酶水	室温	15 ml	30 ml
磁珠	室温	1.5 ml	5 ml

## 特性:

1. 样品来源：TRIZOL 等类似试剂裂解的样品及保存在 DNA/RNA 保护剂中的样品。
2. 提取到高质量 RNA 可应用于 NGS、RT/PCR 等实验。

## 溶液制备: (使用之前需要配制)

添加 10 ml 或 30ml 的异丙醇到 15 ml 或 45ml 的磁珠 **DNA/RNA** 洗涤液 **1** 中。

添加 15 ml 或 45ml 的异丙醇到 10 ml 或 30ml 的磁珠 **DNA/RNA** 洗涤液 **2** 中。

加入后请及时在方框打钩标记，以免多次加入。

## 操作步骤:

实验分 样品裂解 和 RNA提取 两个部分

### (I) 样品裂解匀浆

此步骤主要参考TRIZOL等类似裂解试剂说明书的裂解液用量，以下给出我公司提供的可完美替换TRIZOL的TRIcom试剂用量作为参考。

#### a.组织

动物组织：每30~50mg组织加1ml的TRIcom。裂解之后需要离心去除不溶的组织，然后将上清移置到一个RNase-free的离心管内进行下面的样品纯化步骤。

植物组织：每50~100mg组织加1ml的TRIcom。裂解之后需要离心去除不溶的组织，然后将上清移置到一个RNase-free的离心管内进行下面的样品纯化步骤。

#### b.单层生长的细胞

单层贴壁细胞的收集（收集细胞数量请不要超过 $1 \times 10^7$ ）：可直接在培养容器中裂解（容器体积不超过 $10 \text{ cm}^2$ ），或者使用胰蛋白酶处理后离心收集细胞沉淀。（在摇瓶中培养的单层贴壁细胞通常采用胰蛋白酶处理的方法）。

1) 直接裂解法：直接在培养板中加入RNApure裂解细胞，每 $10 \text{ cm}^2$  面积加入1 ml **TRIcom**。用 取样器吹打几次。2) 胰蛋白酶处理法：确定细胞数量，吸除培养基，用PBS洗涤细胞，吸除PBS，向细胞中加入含有0.1-0.25%胰蛋白酶的PBS 处理细胞，当细胞脱离容器壁时，加入含有血清的培养基失活胰 蛋白酶，将细胞溶液转移至RNase-free 的离心管中， $300 \times g$  离心5 分钟，收集细胞沉淀，仔细吸除所有上清。去除液体培养基后，直接往培养板中加入RNA裂解液溶解细胞，并用移液枪轻轻吹打混匀。依据细胞的数量来决定所需的RNA裂解液量（ $10^5$  细胞以内加100ul,  $10^6$  细胞加300ul）。

#### c.悬浮生长的细胞

离心沉淀细胞( $\leq 500 \times g$ )，完全去除上清后用RNA裂解液重悬细胞沉淀。可短暂涡旋振荡。

d. 细胞悬液：离心取细胞。每  $5 \times 10^6 - 10^7$  动物、植物和酵母细胞或每  $10^7$  细菌细胞加入 1 ml **TRIcom**。加入 **TRIcom** 前不要洗涤细胞，以免降解 mRNA。一些酵母和细菌细胞可能需要匀浆仪处理。

#### e.添加保护剂的样品

离心沉淀细胞，取上清200 ul,添加200 ul等体积的**TRIcom**。

## (II) RNA提取

1. 加入等体积(95-100%)的无水乙醇到上一步TRIcom或TRIZOL裂解液中混匀（如果有未裂解完全的沉淀需要离心取上清部分操作）。
2. 取振荡混匀的磁珠 20 $\mu$ l 添加到上述混合物中，用枪头混匀或者放在振荡器上振荡 10-15 分钟。
3. 将管子转移到一个磁力架上，直到磁珠沉淀下来，吸弃上清液。将管子从磁力架上移走。
4. 添加 500 $\mu$ l 磁珠 DNA/RNA 洗涤液 1 到样品中混匀。
8. 将管子转移到一个磁力架上，直到磁珠沉淀下来，吸弃上清液。将管子从磁力架上移走。
9. 添加 500 $\mu$ l 磁珠 DNA/RNA 洗涤液 2 到样品中混匀。
10. 将管子转移到一个磁力架上，直到磁珠沉淀下来，吸弃上清液。将管子从磁力架上移走。
11. 添加 500 $\mu$ l 乙醇 ( 95%-100% ) 到样品中混匀。
12. 将管子转移到一个磁力架上，直到磁珠沉淀下来，吸弃上清液。将管子从磁力架上移走。
13. 重复步骤 11 · 12
14. 将管子移到一个加热模块上（55 $^{\circ}$ C）直到磁珠变干（大概 10 分钟），如果没有加热模块，可以在室温下放 20-30 分钟自然晾干。（避免过度干燥影响磁珠的洗脱效率）
15. 添加 50 $\mu$ l 的无 DNA 酶 RNA 酶的水到管中重悬磁珠，混匀磁珠 10 分钟，然后将管子移到一个磁力架上，放置 2-3 分钟直到磁珠完全沉淀下来。将上清 ( RNA ) 转移到一个干净的管子内。