

操作手册

RNA 提取试剂盒 (磁珠法)

Catalog No. TB213-32 (32 次反应)

Highlights

- 从血清，血浆，CSF,尿液，唾液，口腔拭子，粪便，组织等样品中提取到总 RNA。
- 提取到的 RNA 可应用于 RT-PCR，高通量测序，杂交等实验。
- 包含的 DNA/RNA 保护剂可以在常温下运输样品并且灭活病毒。

Ver.1.1.5

产品组成:

试剂盒组成	保存	32 次	96 次
DNA/RNA 保护剂 (2X)	室温	25 ml	50ml
蛋白酶 K 套装	-20°C	2x5mg	20mg
RNA 裂解液	室温	20 ml	100ml
磁珠 DNA/RNA 洗涤液 1	室温	15 ml	30 ml
磁珠 DNA/RNA 洗涤液 2	室温	10 ml	20 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：血浆，血清，培养物的上清液，CSF，唾液，口腔拭子，粪便，及其保存在 DNA/RNA 保护剂中的样品。
2. 试剂盒内提供的 DNA/RNA 保护剂可稳定核酸并在常温下运输，保护剂可有效裂解细胞并且灭活病毒。
3. 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 20ml 的异丙醇到 15 ml 或 30ml 的磁珠 **DNA/RNA** 洗涤液 **1** 中。

添加 15 ml 或 30ml 的异丙醇到 10 ml 或 20ml 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

需添加 260µl 蛋白酶 K 保存液到每管蛋白酶 K (5mg) 中。蛋白酶 K 溶液的浓度为 20mg/ml,混匀后，

需要放到-20°C长期保存。制备 DNA/RNA 保护剂 (1X) 只需要等体积添加无 DNA 酶/RNA 酶水到 DNA/RNA 保护剂 (2X) 中即可。

操作步骤:

提示：以下离心步骤的离心力均在10,000-16,000 x g 时间30秒，除非特殊说明。且在室温下进行。

样品制备

1.根据不同的样品类型添加 DNA/RNA 保护剂。

a) 细胞样品

沉淀 10^6 以内哺乳动物细胞 ($\leq 500 \times g$ 离心 1 分钟)，去除上清，并且添加 200 μ l DNA/RNA 保护剂(1X)，然后进行下面的纯化。

b) 固体组织和血细胞 (PBMC,WBC)

b1 添加 $\geq 200 \mu$ l DNA/RNA 保护剂(1X)到 ≤ 5 mg 的固体组织，匀浆。离心后转移 200 μ l 上清液到一个新的管子里。

针对血细胞，血黄层沉淀等样品（来自 < 1 ml 的血液），添加 200 μ l DNA/RNA 保护剂(1X)重悬细胞。

b2 每 200 μ l 保护剂样品的混合物添加 10 μ l 蛋白酶 K，混匀室温（20-30 $^{\circ}$ C）下放置 30 分钟。

c) 环境样品（土壤，粪便，植物，拭子等）

c1 添加 50mg 以内样品到 750 μ l DNA/RNA 保护剂(1X)中，涡旋振荡。（可选配我公司裂解管），离心后转移 200 μ l 上清液到一个新的管子里。

c2 添加 10 μ l 蛋白酶 K，混匀室温（20-30 $^{\circ}$ C）下放置 30 分钟。

样品纯化

2.添加 500 μ l（2.5 倍体积）RNA 裂解液到 200 μ l 样品中，混匀。

3. 取振荡混匀的磁珠 20 μ 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。

4. 将离心管或板子放到磁力架上，直到磁珠（吸附 DNA）沉淀下来，转移上清液（含 RNA）到一个干净的管子中。
5. 添加 700 μ l（1 倍体积）95-100%的无水乙醇到上述管子中，混匀。
6. 取振荡混匀的磁珠 30 μ 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。
7. 添加 500 μ 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 μ 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 μ 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. 室温下放置 10 分钟自然干燥。（避免过度干燥影响磁珠的洗脱效率）
15. 添加 50 μ l 的无 DNA 酶 RNA 酶的水到管中重悬磁珠，混匀磁珠，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。