

总RNA 提取试剂盒（配合TRIZOL磁珠法）

使用说明书 (Ver.1.2.0)

产品特点

- ◇ 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。

产品货号：

TB210-32（32次反应） TB210-96（96次反应）



扫描二维码了解更多产品信息

目录Contents

产品组份	1
产品特性	1
溶液制备	1
操作步骤	1
◇ 样品裂解匀浆	1
◇ RNA提取	2
组件查询	3

产品组份

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

产品特性

- ◇ 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。
- ◇ 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内打钩标记，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无DNase/RNase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无DNase/RNase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 1×10^7 ）：可直接在培养容器中裂解（容器体积不超过 10cm^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TRIcom裂解细胞，每 10cm^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，将细胞溶液转移至无DNase/RNase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TRIcom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TRIcom量（ 10^6 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TRIcom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 μl 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 μl 磁珠 DNA/RNA 洗涤液 1 到样品中混匀。
5. 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。
6. 添加 500 μl 磁珠 DNA/RNA 洗涤液 2 到样品中混匀。
7. 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。
8. 添加 500 μl 乙醇 (95%-100%) 到样品中混匀。
9. 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。
10. 重复步骤 8, 9。
11. 将管子移到一个加热模块上 (55°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）
12. 添加 50 μl 的无DNase/RNase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。

组件查询

组件名称	货号	规格	储存
TRlcom(选配)	TR201-50	50ml	4°C
磁珠 DNA/RNA 洗涤液 1	TR2130-1-15	15ml	室温
	TR2130-1-45	45ml	室温
磁珠 DNA/RNA 洗涤液 2	TR2130-2-10	10ml	室温
	TR2130-2-30	30ml	室温
无 DNase/RNase 水	TW1001-15	15ml	室温
	TW1001-30	30ml	室温
磁珠	TD4100-2-1.5	1.5ml	室温
	TD4100-2-5	5ml	室温