

# RNA 提取试剂盒（预分装磁珠法）

使用说明书 (Ver.1.1.5)

## 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-kf（32次反应） TB210-96-kf（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
注意事项	1
产品特性	1
操作步骤	1
样品裂解匀浆	1
RNA纯化	4

## 产品组份

试剂盒组成	TB210-32-kf	TB210-96-kf	保存
TRIcom(选配)	50ml	100ml	4°C
裂解管 (选配)	32个	96个	室温
96 孔板 (预分装磁珠法)	2块	6块	室温

## 注意事项

- ✧ 筒石生物产品仅供研究使用，并应由专业人员操作。本试剂盒中包含的一些试剂是刺激物。请戴好防护手套和护眼用品。遵循您的研究机构或设施制定的安全准则和规则。
- ✧ 售出后一年内产品可质保。 试剂盒已经过大量的常规检测来保证其可操作性。

## 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。

## 操作步骤

实验分 样品裂解匀浆和 RNA纯化 两个部分

### 1) 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100~200mg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（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）。

直接裂解法：在培养板中加入RNApure裂解细胞，每10cm<sup>2</sup>面积加入1ml TRIcom。用取样器吹打几次。

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，3000×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<sup>5</sup>细胞以内加100μl，10<sup>6</sup>细胞加300μl）。

c. 悬浮生长的细胞：

离心沉淀细胞(≤3000xg)，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 5×10<sup>6</sup>—10<sup>7</sup>动物、植物和酵母细胞或每10<sup>7</sup>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（EZshield®）：

离心沉淀细胞，取上清200μl，添加200μl等体积的TRIcom。

以上样本处理操作完成后，请适当消化（低温保存或低温过夜消化）或研磨仪破碎处理，可选用筒石™适配的各类型研磨珠配套筒石™研磨仪破碎处理。破碎条件如下：

样品种类		样品量	需添加量 TRIcom	(I)样品前处理（样品裂解/匀浆）
细胞	悬浮动物细胞培养	≤10 <sup>5</sup>	≥100μl	离心沉淀细胞 / 直接在培养皿中裂解 方案1：离心细胞悬液，以≤ 500 x g的离心速度离心1分钟，去除上清后用适量TRIcom反复吹打来重悬裂解细胞。 方案2：单层贴壁细胞，可在培养皿中直接裂解。每1cm <sup>2</sup> 培养表面积加入100 μl TRIcom。（容器体积≤10cm <sup>2</sup> ）室温放置3min 注意：贴壁培养细胞通常不能完全从培养瓶（皿）脱落，这并不意味着裂解不完全，此时细胞膜已完全破裂开，核酸已释放。
		≤10 <sup>6</sup>	≥300μl	
	贴壁动物细胞培养	≤5x10 <sup>6</sup>	≥600μl	
		革兰氏(-)菌	≤10 <sup>8</sup>	

组织  动植物, 新鲜/冷冻样品	哺乳动物	30-50 mg	1ml	液氮研磨 / 样品破碎仪 (垂直震荡低温款) 方案1: 将组织在液氮里迅速研磨成粉末, 再添加1ml TRIcom, 室温放置3-5min 方案2: 添加1ml TRIcom, 配合样品破碎仪 (垂直震荡低温款)+裂解珠(2.0 mm), 机器处理程序如下 动物组织: (60Hz, 45s/周期×1) 植物/昆虫: (60Hz, 45-60s/周期×2)
	植物/种子/昆虫	50-100mg	1ml	
微生物	细菌/酵母/粪便/土壤			样品均质仪 (“8”字旋转低温款)+裂解珠(0.5 mm&0.1 mm) 机器处理程序: (6m/s, 30s/周期×2)
液体样品	血浆/血清/白细胞/脑脊液等	100μl	300μl	液体样品中加入3倍体积的LS-TRIcom, 混合均匀室温放置3min
难裂解的样品	组织/酵母/植物等			可以使用液氮研磨 / 研磨仪 (垂直或“8”字低温款) 配合蛋白酶K和裂解珠(不同样品选配)
DNA/RNA 保护剂 (EZShied®)	保存在其中的组织/细胞	100μl	100μl	添加了DNA/RNA保护剂 (EZShied®) 的匀浆样品放到室温下 (无需去除保护剂), 添加1倍体积的LS-TRIcom、混匀室温放置3min
RNAlater™	保存在其中的组织/细胞			首先去除RNAlater™, 只保留样品。 然后参考上述对应的样品前处理方案。

◇ 匀浆后的样品是否采用氯仿处理可分为不同的操作步骤

常规Trizol上清处理	氯仿有机相抽提 (可选步骤)
<p>3. 上述处理后的匀浆样本, <math>\geq 16000g</math>, 高速离心10min。</p> <p>4. 可取得上清的范围约100μl~ 600μl (不同样本处理, 加入TRIcom 体积不同, 所得上清不同) 加到一个干净的 DNase \ RNase-free 的离心管中, 下接 RNA纯化步骤</p>	<p>3. 上述处理后的匀浆样本, 按照体积的20%添加氯仿 (例如: 1ml Trizol 与200μl氯仿充分混匀), 剧烈振荡混匀液相, 5min, 成乳化相。</p> <p>4. 上述乳化液相, <math>\geq 16000g</math>高速离心10min。</p> <p>5. 上述离心后所得水相范围约 100μl~ 600μl 加到一个干净的 DNase \ RNase-free 的离心管中 (不同样本处理, 加入TRIcom 体积不同, 所得上清不同), 下接 RNA纯化步骤</p>

## II) RNA提取

提取板使用之前，请低速离心或者用手轻轻甩动，使得壁上的试剂落下。

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。

注：上述TRIzol充分破碎处理过的匀浆样本（或氯仿处理过的样本），取出干净的上清或干净的水相与0.6倍的异丙醇充分混匀（例如：500 $\mu$ l干净的上清与300 $\mu$ l异丙醇充分混匀；视样本量而定，请注意预分装的全自动化提取板的加样孔位体积上限为1000 $\mu$ l，注意使用的上清与异丙醇的混合体积。）

混合好后全部加入 32次规格提取板的第1、7列当中 或 96次规格提取板的第一板位。

TB210-32-kf (32次反应) 96孔板试剂分布：推荐使用我公司BrightBOT-32(32通道核酸提取仪)

注意：第1、7列为样品添加的位置

	1、7列	2、8列	3、9列	4、10列	5、11列	6、12列
A	空	磁珠 DNA/RNA 洗涤1 600 $\mu$ l	磁珠 DNA/RNA 洗涤2 900 $\mu$ l	无水乙醇 500 $\mu$ l (含磁珠)	无水乙醇 (100%) 500 $\mu$ l	无酶水 100 $\mu$ l
B						
C						
D						
E						
F						
G						
H						

程序设置 TB210-32-kf (32次反应):

裂解加热：开		裂解温度：55 $^{\circ}$ C		裂解终止：孔位二、八	
洗脱加热：开		洗脱温度：55 $^{\circ}$ C		洗脱开始：孔位六、十二	
	步骤一	步骤二	步骤三	步骤四	步骤五
名称	Transfer	Lysis	Wash I	Wash II	Wash III
孔位	4、10	1、7	2、8	3、9	4、10
等待时间	-	-	-	-	-

混合时间	120s	600s	120s	120s	120s
磁吸时间	120s	120s	120s	120s	120s
容积	500μl	400μl~900μl	600μl	900μl	500μl
速度	快	快	快	快	快

洗脱加热: 开	裂解温度: 55°C		裂解终止: 孔位二、八		
洗脱加热: 开	洗脱温度: 55°C		洗脱开始: 孔位六、十二		
	步骤六		步骤七		步骤八
名称	Wash IV		Elute		Discard
孔位	5、11		6、12		5、11
等待时间	-		300s		-
混合时间	120s		300s		120s
磁吸时间	120s		120s		0s
容积	500μl		100μl		500μl
速度	快		快		快

TB210-96-kf (96次反应) 96孔板试剂分布: 推荐使用我公司BrightBOT-96(96通道核酸提取仪)

	第一板	第二板	第三板	第四板	第五板	第六板
A	空	磁珠 DNA/RNA 洗涤1 600μl	磁珠 DNA/RNA 洗涤2 900μl	无水乙醇 500μl (含磁珠)	无水乙醇 (100%) 500μl	无酶水 100μl
B						
C						
D						
E						
F						
G						
H						

裂解加热：开	裂解温度：55°C		裂解终止：第一板
洗脱加热：开	洗脱温度：55°C		洗脱开始：第六板
	步骤六	步骤七	步骤八
名称	Wash IV	Elute	Discard
板位	5	6	3
等待时间	-	300s	-
混合时间	120s	300s	120s
磁吸时间	120s	120s	0s
容积	500µl	100µl	900µl
速度	快	快	快

程序设置 TB210-96-kf (96次反应)：

裂解加热：开	裂解温度：55°C			裂解终止：第一板	
洗脱加热：开	洗脱温度：55°C			洗脱开始：第六板	
	步骤一	步骤二	步骤三	步骤四	步骤五
名称	Transfer	Lysis	Wash I	Wash II	Wash III
板位	4	1	2	3	4
等待时间	-	-	-	-	-
混合时间	120s	600s	120s	120s	120s
磁吸时间	120s	120s	120s	120s	120s
容积	500µl	400µl~900µl	600µl	900µl	500µl
速度	快	快	快	快	快