

总 RNA 提取试剂盒 V2

Total RNA Extraction Kit



产品货号: MAG-MS-RNA-V2-50, MAG-MS-RNA-V2-250

产品规格: 50 rxns, 250 rxns

储存条件: DNase I Buffer 和 DNase I 储存于-20°C, 其他组分室温保存 12 个月。

运输条件: 常温运输

应用范围: 适用于从 $<1 \times 10^7$ 个细胞、 $\leq 30\text{mg}$ 动物组织、 $\leq 100\text{mg}$ 常规经济植物组织或多糖多酚植物等样本中纯化 RNA。

产品组分

组分	MAG-MS-RNA-V2-50	MAG-MS-RNA-V2-250
RNA Beads KK	1.5 mL	7.5 mL
DNase I Buffer	5 mL	25 mL
DNase I	110 μL	550 μL
Buffer RLT Plus	40 mL	200 mL
Buffer PLC	40 mL	200 mL
Buffer RL1	25 mL	125 mL
Buffer RPE	15 mL	75 mL
RNase-Free ddH ₂ O	10 mL	25mL

*注:

- 1) DNase I Buffer 和 DNase I 储存于-20°C。
- 2) Buffer RLT Plus 适用于细胞, 动物组织和常规经济植物组织, Buffer PLC 适用于多糖多酚植物;
- 3) Buffer RL1 和 Buffer RPE 为浓缩液, 使用前须按试剂瓶子标签所示, 加入无水乙醇进行稀释。

产品介绍

本试剂盒采用磁珠法纯化技术, 可在 45 分钟内高效获得高纯度、完整性好的 RNA。整个过程无需使用苯酚/氯仿等有机溶剂萃取, 也省去了耗时的醇沉淀步骤。使用 DNase I 可有效去除基因组 DNA 污染, 非常适合对少量 DNA 污染敏感的下游应用, 相对于 gDNA 去除柱操作, 其自动化程度更高。纯化后的 RNA 使用 RNase-Free ddH₂O 洗脱, 可直接用于 RT-qPCR、NGS 等下游分子生物学实验, 或于-20°C/-80°C 长期储存。

适用仪器

本试剂盒适用于 BIO-DL 32, TIANGEN TGuide S32, TIANLONG NP968-C, Rosetta 96 等自动化核酸提取仪, 也适用于手动提取。





操作步骤

一. 首次使用前:

1. 客户自备物品: 无水乙醇 (AR)、 β -巯基乙醇或DTT
2. Buffer RL1和Buffer RPE在使用前需按照标签所示加入无水乙醇进行稀释后使用;
3. (可选)提升裂解液的变性能力: 使用前分装适量Buffer RLT Plus, 按每1 mL Buffer RLT Plus加入10 μ L β -巯基乙醇或20 μ L的2M DTT, 混合液室温可保存1月。

二. 样本前处理:

A: 细胞

1. a) 在悬浮培养液中的细胞 (不超过 1×10^7 个细胞) 通过在离心管中以 $2500 \times g$ 离心5分钟, 沉淀细胞。小心吸弃所有上清液, 执行纯化步骤。

b) 单层培养的细胞 (不超过 1×10^7 个细胞) 可以直接在细胞培养器皿 (直径不超过10厘米) 中裂解, 或者在裂解之前通过胰酶处理并收集为细胞沉淀。在细胞培养瓶中培养的细胞应始终经过胰酶处理, 执行步骤2。

2. 加入600 μ L Buffer RLT Plus, 用一次性注射器或移液枪吹打裂解液10~20次, 吹散细胞, 然后涡旋10秒, 取500 μ L上清液继续执行纯化步骤。

B: 动物组织/植物组织

1. 称取适量的组织样本 (≤ 30 mg动物组织、 ≤ 100 mg植物组织), 选择合适的组织匀浆方式进行匀浆 (可选用液氮研磨、机械/玻璃匀浆器、珠磨仪等工具, 优选使用液氮研磨, 低温液氮可保护RNA不降解)。

2. 加入700~800 μ L Buffer RLT Plus (已加入 β -巯基乙醇或DTT), 用一次性注射器或移液枪吹打裂解液10~20次, 涡旋混匀10秒, $12,000 \times g$ 或最高转速离心5分钟, 取500 μ L裂解上清液, 立刻继续纯化步骤。

注: 植物组织样本根据类型选用不同的裂解液, 常规经济植物组织选用Buffer RLT Plus裂解液, 多糖多酚植物组织和高淀粉植物等复杂样本建议选用Buffer PLC裂解液。

三. 纯化步骤: 手动法

3. 在上述离心管中加入400 μ L 无水乙醇和25 μ L RNA Beads KK, 使用涡旋混匀仪室温涡旋混匀5分钟以促进RNA与磁珠结合。
4. 短暂离心, 将离心管内液体收集至底部, 然后将离心管置于磁力架上静置30秒。待磁珠完全吸附后, 用移液器吸弃管内液体。
5. 加入700 μ L Buffer RL1 (已加入乙醇), 振荡清洗2分钟, 磁性分离, 吸弃上清液。
6. 加入700 μ L Buffer RPE (已加入乙醇), 振荡清洗2分钟, 磁性分离, 吸弃上清液。
7. 加入提前混匀的2 μ L DNase I和98 μ L DNase I Buffer (可以提前混匀), 低速振荡混匀15分钟, 磁性分离, 吸弃上清液。
8. 加入700 μ L Buffer RPE (已加入乙醇), 振荡清洗2分钟, 磁性分离, 吸弃上清液。





9. 瞬时离心，将离心管继续保持在磁力架上，吸弃残留液体，干燥~5分钟至无明显乙醇气味。

10. 向离心管中加入50~100μL RNase-Free ddH₂O，吹散或振荡磁珠50℃振荡5分钟。磁性分离，将洗脱液转移至另一干净离心管中，得RNA产物，保存于-80℃。

四. 纯化步骤: 32位核酸提取仪

试剂加板方式

孔位	1/7	2/8	3/9	4/10	5/11	6/12
试剂	无水乙醇:400μL RNA Beads KK: 25μL	Buffer RL1: 700μL	Buffer RPE: 700μL	DNase I Buffer: 98μL DNase I: 2μL	Buffer RPE: 700μL	RNase-Free ddH ₂ O: 50- 100μL

向1/7孔位中加入样本前处理的500μL裂解上清液；

将试剂板放置于核酸提取仪底座上，将8位磁棒套插入核酸提取仪卡槽内，运行相应自动化提取程序。

程序运行完毕，转移6/12中RNA至新离心管中，提取过程结束。

注：长时间保存建议将RNA产物保存于-80℃环境。

【UE 32位核酸提取仪程序参数】

步骤	孔位	液量	浸泡 (0-255 秒)	搅拌 强度 (1-6)	搅拌 时间 (秒)	下降 吸磁 (秒)	液底 吸磁 (秒)	吸磁 次数	等待 时间 (秒)	暂停 关/开 (0/1)	板1 裂解 (°C)	板1 洗脱 (°C)	板2 裂解 (°C)	板2 洗脱 (°C)	风扇 关/开 (0/1)
1	1	900	0	5	300	15	5	3	0	0	25	0	25	0	0
2	2	700	0	5	120	10	5	2	0	0	0	0	0	0	0
3	3	700	0	5	120	10	5	2	60	0	0	0	0	0	1
4	4	100	0	1	900	15	5	2	0	0	0	0	0	0	0
5	5	700	0	5	120	10	5	2	180	0	0	0	0	0	1
6	6	100	0	4	300	15	10	4	0	0	0	50	0	50	0
7	5	700	0	5	15	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0

备注：不同品牌核酸提取仪可根据实际情况调整相应的参数。

常见问题及解决方案

1. 高脂肪含量的动物组织（如大脑和脂肪组织）或其他疑难动物组织样本前处理可使用1mL Trizol试剂裂解，氯仿处理后得到上清液，吸取上清水相执行纯化步骤。
2. 提取心脏、肌肉等蛋白含量高的组织或脂肪组织或血液样本分离的白细胞需要将DNase I用量提高2~4倍以确保去除基因组DNA，需按用量另购 DNase I。

