

总 RNA 提取试剂盒

Total RNA Extraction Kit



产品货号： MAG-MS-RNA-50, MAG-MS-RNA-250

产品规格： 50 rxns, 250 rxns

储存条件： 所有组分室温保存 12 个月。

运输条件： 常温运输

应用范围： 适用于从 $<5 \times 10^6$ 个细胞/细菌、 $\leq 20\text{mg}$ 动物组织、 $\leq 100\text{mg}$ 常规经济植物组织等样本提取高质量 RNA。

产品组分

组分	MAG-MS-RNA-50	MAG-MS-RNA-250
Spin Columns	50 个	250 个
Collection Tubes (2mL)	50 个	250 个
RNA Beads K	2.5 mL	12.5 mL
Buffer RLT Plus ^{*1}	50 mL	250 mL
Buffer RL1 ^{*2}	50 mL	125 mL*2
Buffer RPE ^{*2}	16 mL	40 mL*2
RNase-Free ddH ₂ O	5 mL	25mL

*注：

- 1) Buffer RLT Plus 低温下可能会有沉淀析出，需在 60°C 水浴让沉淀完全溶解并冷却至室温后使用。
- 2) 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 30 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。试剂盒内置专门设计的离心柱，可高效去除基因组 DNA (gDNA) 残留，特别适用于对痕量 DNA 污染敏感的下游应用。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；



Uelandy Inc.

Tel: 0512-88965152

Web: www.uelandy.com



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/细菌

1. a) 取适量悬浮培养液中的细胞（不超过 5×10^6 个细胞）在离心管中以 $500 \times g$ 离心5分钟，沉淀适量的细胞。小心吸弃所有上清液，执行步骤2。

b) 单层培养的细胞（不超过 5×10^6 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。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700 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。继续执行步骤3。

B：动物/植物组织

1. 称取适量的组织样本（ ≤ 20 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2分钟，立刻继续执行步骤3。

注：在后续步骤中仅使用该上清液（裂解物），因为组织匀浆后未能被裂解液溶解的残余不溶物有可能导致Spin Columns的堵塞。

3. 将匀浆裂解物转移到放置在2mL收集管中的Spin Columns离心柱中。 $12,000 \times g$ 离心1分钟。丢弃离心柱，转移600 μ L滤液至新的2 mL离心管中。

三. 纯化步骤：手动法

4. 在上述离心管中加入300 μ L 无水乙醇和50 μ L RNA Beads K，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。

5. 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。

6. 加入700 μ L Buffer RL1（已加入乙醇），振荡清洗3分钟，磁性分离，吸弃上清液。

7. 重复上述步骤1次。

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. 重复上述步骤1次。

10. 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5~10分钟至无明显乙醇气味。

11. 向离心管中加入50~100 μ L RNase-Free ddH₂O，吹散或振荡磁珠室温振荡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°C。

四. 纯化步骤：96位核酸提取仪





将Sample Plate中加入300 μ L无水乙醇和50 μ L RNA Beads K（可预先混合）；

在Sample Plate中加入相应体积的不同样本的600 μ L裂解上清液；

将96位磁棒套放入到Wash 3 Plate中（必须准确放入，否则可能损坏磁棒套。此步骤为针对KingFisher Flex，若使用其它品牌仪器请做相应调整）。

将试剂板按对应顺序放入核酸提取仪中，运行程序。

程序运行完毕，转移Elute Plate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 $^{\circ}$ C环境。

试剂板	内容物	KingFisher Flex
Sample Plate	Lysate: 600 μ L 无水乙醇: 300 μ L RNA Beads K: 50 μ L	/
Wash 1 Plate	Buffer RL1: 700 μ L	/
Wash 2 Plate	Buffer RL1: 700 μ L	/
Wash 3 Plate	Buffer RPE: 700 μ L	放入96-Tip
Wash 4 Plate	Buffer RPE: 700 μ L	/
Elute Plate	RNase-Free ddH ₂ O: 50~100 μ L	/

【推荐96位核酸提取仪程序参数】

步骤	盘位	名称	等待时间 (sec)	混合时间 (sec)	磁吸时间 (sec)	容积 (μ L)	混合 速度	温度 ($^{\circ}$ C)
1	1	Binding	0	360	30	850	3	OFF
2	2	Wash 1	0	180	30	700	3	OFF
3	3	Wash 2	0	180	30	700	3	OFF
4	4	Wash 3	0	120	30	700	3	OFF
5	5	Wash 4	0	120	30	700	3	OFF
6	8	Elution	180	360	60	100	3	OFF
7	4	Beads Discarding	0	30	0	700	3	OFF

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。

