

RNA 提取纯化试剂使用说明书

【产品名称】RNA 提取纯化试剂盒

英文名称: High Pure RNA Kit

【包装规格】50T/盒、32 T/盒

【适用范围】动物、植物、细菌、酵母菌、培养细胞等。

【原理】本试剂盒是基于 TRizol 改进后的磁珠法总 RNA 提取试剂盒, 裂解液充分裂解并匀质化样本, 采用独特的硅羟基纳米磁珠技术, 通过硅羟基磁珠在高盐状态下高效专一的结合溶液中的 RNA, 同时最大限度的有效除去蛋白质、无机盐离子及有机杂质等; 可从动物组织、植物材料、各种微生物及培养细胞等样品中快速提取总 RNA, 每次可处理 30-50 mg 组织或 5×10^6 细胞, 可同时处理多个不同样品。本试剂盒提取得到的 RNA 可直接应用于 RT-PCR、Northern Blot、Dot Blot、体外翻译等实验。

【组成成份】

货号	SUP-151605-50	SUP-151606-32	主要成分
试剂盒规格	50 T	32 T	
裂解液 (TRizol plus)	50 mL/瓶×1 瓶	35 mL/瓶×1 瓶	强变性剂与 Tris 缓冲液
漂洗液	12mL /瓶×1 瓶	预分装试剂条 或 16T/板试剂板	
DEPC 水	5 mL /瓶×1 瓶		高盐溶液
磁珠	1mL×1 支	低盐溶液	
配套耗材	/	磁套 8 条、适配架 2 个	低盐溶液
说明书	1 份	1 份	

注: 若购买的是 SUP-151605 请在使用前在漂洗液中加入 48 mL 的无水乙醇。

自备试剂: 氯仿(新开封或提取 RNA 专用)、70%乙醇(无 RNase 水配制)、无水乙醇。

【储存及有效期】

- 1、预封装试剂板: 室温 (8-25°C)。
- 2、未开封试剂盒有效期为 12 个月, 已开封试剂 1 个月内用完, 请在有效期内使用。
- 3、不同批次试剂组分, 不能混用。

【适用设备与仪器】

磁性分离架或全自动核酸提取仪。

【样本要求】

新鲜制备的样品。

【操作方法】

使用前请先在漂洗液中加入无水乙醇, 加入体积请参照瓶上的标签。

1. 样品处理

1a. 植物组织: 取新鲜植物组织在液氮中充分研磨或将植物组织剪碎后直接在裂解液 (TRizol plus) 中迅速研磨, 每 30-50 mg 组织加入 1 ml 裂解液 (TRizol plus), 混匀。

注意: 样品体积一般不要超过裂解液 (TRizol plus) 体积的 10%。

1b. 动物组织: 取新鲜或 -70°C 冻存的动物组织尽量剪碎, 每 30-50 mg 组织加入 1 ml 裂解液 (TRizol plus), 匀浆仪进行匀浆处理。或在液氮中研磨后加入裂解液 (TRizol plus) 1ml 混匀。

注意: 样品体积一般不要超过裂解液 (TRizol plus) 体积的 10%。

1c. 单层培养细胞: 吸去培养液, 可直接在培养板中加入适量裂解液 (TRizol plus) (每 10 cm² 面积需要 1 ml 裂解液 (TRizol plus)), 用取样器反复吹打使细胞裂解。也可用胰蛋白酶处理后, 将细胞溶液转移至 RNase-Free 的离心管中, 300×g 离心 5 min, 收集细胞沉淀, 仔细吸除所有上清, 加入裂解液 (TRizol plus) 1 ml 混匀。

注意: 1) 收集细胞数量不要超过 1×10^7 。

2) 裂解液 (TRizol plus) 加量根据培养板面积决定, 不是由细胞数决定。如果裂解液 (TRizol plus) 加量不足, 可能导致提取的 RNA 中有 DNA 污染。

3) 收集细胞时一定要将细胞培养液去除干净, 否则会导致裂解不完全, 造成 RNA 的产量降低。

1d. 细胞悬液: 离心收集细胞。每 5×10^6 - 1×10^7 动物、植物和酵母细胞或每 10^7 细菌细胞加入 1 ml 裂解液 (TRizol plus)。

注意: 1) 加入裂解液 (TRizol plus) 前不要洗涤细胞, 以免 RNA 降解。

2) 一些酵母和细菌细胞可能需要匀浆仪或液氮研磨处理。

1e. 血液处理：直接取新鲜的血液，加入 3 倍体积的裂解液（TRizol plus）（推荐 0.25 ml 全血加入 0.75 ml 裂解液（TRizol plus）），充分振荡混匀。

1f.（可选步骤）：对于蛋白、脂肪、多糖或胞外物质含量高的样品，如肌肉组织、脂肪组织或植物的块茎，可以在匀浆处理后 4℃，12,000 rpm（~13,400×g）离心 10min 以除去不溶物质，此时沉淀中含胞外物质、多糖和高分子量的 DNA，而 RNA 存在于上清中。

2. 样品中加入裂解液（TRizol plus）后反复吹打几次，使样本充分裂解。室温放置 5min，使蛋白核酸复合物完全分离。

3. 以每 1 ml 裂解液（TRizol plus）加入 200 μL 氯仿的比例加入氯仿，盖好管盖，涡旋震荡 20sec，静置 5min。

4. 4℃ 12,000 rpm（~13,400×g）离心 10min，此时样品分为三层：红色有机相，中间层和上层无色水相，RNA 主要在上层水相中。

a. 若使用磁力架进行纯化请按照如下方法进行。

5、入 20μL 混合均匀的磁珠，加入等体积的 70% 无水乙醇（新鲜配制），上下颠倒混匀离心管，室温静置 5min（注意：期间每隔 1min，颠倒混匀几次）。

6、将离心管放入磁性分离架，使其吸附磁珠，磁吸时间 1min，吸弃液体，从磁性分离架上移开离心管。

7、加入 500μL 漂洗液到离心管中，上下颠倒混匀，确保磁珠完全分散，使用磁性分离架吸附磁珠，吸弃液体。

8、从磁性分离架上移走离心管，重复步骤 3 一次（注意：此步骤确保液体弃干净）。

9、室温开盖干燥 2min。

10、加 80-100μL Buffer DE，振荡混匀，此时离心管壁可能会粘附磁珠，可用移液器吸起离心管里的 Buffer DE 将其吹打下来。

11、使用磁性分离架吸附磁珠，吸取含有病毒 DNA 的液体转移到干净无菌无核酸酶的离心管中备用。若不急需使用 DNA，请放入 -20℃ 冻存。

b. 配套自动化仪器使用，以本 mypure32 全自动核酸提取仪为例。

若购买的是 SUP-151605 请按照如下操作方式进行。

试剂分装：

在试剂条的第 1、7 列中各加入 400μL 70% 无水乙醇，在第 2、3、8、9 列加入 500μL

漂洗液（请确认已加无水乙醇），在第 6、12 列中各加入 80-100μL DEPC 水。

c. 若购买的是 SUP-151606 请按照如下操作方式进行。

5、在 6 孔试剂条的第 1、7 列中各加入 400μL 的水相上清。

6、将 6 孔试剂条放入 mypure32 全自动核酸提取仪的指定位置中，装上磁棒护套。

7、请按以下程序进行实验。

步骤	孔位	步骤说明	等待时间	混合时间	吸磁时间	容积	混合速度	加热设置
1	1	结合	0:0	5min	1: 0	800	中	关
2	2	漂洗 1	0:0	30sec	1: 0	500	快	关
3	3	漂洗 2	0:0	30sec	1: 0	500	快	关
6	6	洗脱 RNA	2:0	2min	1: 0	80	快	关
7	3	去磁珠	0:0	30sec	0: 0	600	快	关

8、仪器程序运行结束后，将第 6、12 列的 Buffer DE 转移至干净的无菌无核酸酶离心管中备用，如不急需用 DNA，可以将其放入 -20℃ 冻存。

【注意事项】

1、漂洗液按要求加入无水乙醇（分析纯）。

2、上述的程序适用于 mypure32 全自动核酸提取仪，如果用户使用其他品牌的核酸提取仪，需根据实际使用的仪器性能进行调整程序。

3、实验过程中用的耗材均是 RNase-Free 的。

4、试剂可能刺激眼睛、皮肤或黏膜，一旦直接接触，请立即用大量清水冲洗。

【基本信息】

生产企业：广州赛百纯生物科技有限公司

地址：广州市瑞发路 12 号自编三栋 4 楼 401 单元

服务热线：020-82517389

邮编：510600

网址：<http://www.surbiopure.com>