

磁珠法通用型总 RNA 快速提取试剂盒

Magbead Total RNA Extraction Kit

产品编号: YFXM0014

(本试剂盒仅供科研使用)

产品介绍

翼飞雪磁珠法通用型总 RNA 快速提取试剂盒利用裂解液快速从样本中释放 RNA, 磁珠在特定的缓冲液条件下与 RNA 结合并在磁场的作用下富集 RNA。

相对于柱膜法提取的 RNA, 磁珠法所获得的总 RNA 量显著提升, 而且包含小片段 RNA; 当样品量较小时, 可以用小体积溶解以提高 RNA 浓度。

本试剂盒可以适用于提取普通植物组织、动物组织、培养细胞、细菌、血液及其他液体等样本的总 RNA, 但不适合从多糖多酚植物组织中提取总 RNA。

用本试剂盒提取的总 RNA 可应用于如 cDNA 合成, RT-PCR, RT-qPCR, NorthernBlot, DotBlot, 体外翻译, 芯片分析, PolyA 筛选, 分子克隆, RNase 保护分析等各种下游分子生物学实验。

试剂盒组成

试剂盒成分	100T
Yfxbio®LS	100mL
Yfxbio®PS	20mL
Yfxbio®FMB For RNA	1mL(100mg) ¹⁾
Yfxbio®WS1	24mL ²⁾
Yfxbio®WS2	33mL ³⁾
Yfxbio®ES	6mL

注:

1) 使用前需加入 100mL 无水乙醇; 2) 使用前需加入 42mL 无水乙醇; 3) 使用前需加入 77mL 无水乙醇。

自备材料

无水乙醇 (新开封或专用于 RNA 提取), 磁力架, 1.5mL、2mL RNase-Free 离心管。

注意事项

- 1、仔细阅读本说明书, 每个品牌的产品都有各自特性, 切忌按照使用其他品牌试剂盒的经验, 来使用本试剂盒。
- 2、实验中所使用的全部容器都需要经过无酶处理, 或者直接购买 RNase-Free 商品化产品。
- 3、实验中所使用的无水乙醇, 需要新开封或者专用于 RNA 提取。
- 4、倾倒上清液时, 需要将离心管置于磁力架或者替代磁场中, 以免磁珠损失。

样本处理

- 1、组织样本/真菌: 取 50-100mg 组织样本或者 5×10^7 真菌, 液氮迅速、反复研磨成粉末; 或者组织匀浆处理, 进行后续提取操作。
- 2、悬浮细胞: 使用 1.5mL 或 2mL RNase-Free 离心管低速离心收集 5×10^6 细胞, 弃去上清, 加入 1mL Yfxbio®LS, 反复吹打或涡旋震荡 10s, 4°C 静置 5-10min。
- 3、贴壁细胞: 去除培养基, 按照 1mL Yfxbio®LS: 10cm^2 细胞的比例, 使用 Yfxbio®LS 吹打收集细胞, 转移至 1.5mL 或 2mL RNase-Free 离心管, 反复吹打或涡旋震荡 10s, 4°C 静置 5-10min。
- 4、细菌: 使用 1.5mL 或 2mL RNase-Free 离心管离心收集约 2mL 菌体(菌体数量约为 5×10^7), 加入 1mL Yfxbio®LS, 反复吹打或涡旋震荡 10s, 65°C 静置 5-10min。
- 5、血液及其他液体: 取 300 μL 液体样本, 加入 1mL Yfxbio®LS, 在 1.5mL 或 2mL RNase-Free 离心管中充分混匀或涡旋震荡 10s, 4°C 静置 5-10min。

注: 如果样品粘性较大, 65°C 处理 10min, 可提高提取产量。

提取步骤

- 1、加入 200 μL Yfxbio®PS, 剧烈震荡或涡旋震荡 10s。

注: Yfxbio®PS 为氯仿替代物, 对于操作不熟练的用户, 增加本步骤可以提高 RNA 的提取纯度。如操作技术熟练, 可以省略此步骤, 此时步骤 2 中的上清液可吸取 950 μL 。

- 2、室温 13000rpm 离心 5-10min, 小心取上清液约 600 μL 转移至 1.5 或 2mL RNase-Free 离心管中, 加入等体积的 Yfxbio®FMB For RNA, 剧烈震荡或涡旋震荡 10s 至磁珠彻底分散, 室温静置 30s。

注: 1) Yfxbio®FMB For RNA 使用前要用力摇晃, 使磁珠均匀分散。FMB 体积: 上清液体积=1: 1 时, 核酸吸附能力最强。

- 2) 离心管盖上有时会残留磁珠, 可通过颠倒磁力架, 使磁珠富集在一起。

- 3、将离心管放置到磁力架, 静置 10s, 直至磁珠被全部吸附。

注: 静置时间与磁场强度相关, 可以根据观察溶液的澄清程度确定静置时间。如使用 12 孔磁力架, 建议使用 2mL RNase-Free 离心管, 以便与磁力架更加贴合。

- 4、在磁场中倒去上清, 加入 500 μL Yfxbio®WS1, 脱离磁场, 剧烈震荡或涡旋震荡 10s 至磁珠彻底分散后, 将离心管再次放置到磁力架, 静置 10s, 直至磁珠被全部吸附。

- 5、在磁场中倒去上清, 加入 500 μL Yfxbio®WS2, 脱离磁场, 剧烈震荡或涡旋震荡 10s 至磁珠彻底分散后, 将离心管再次放置到磁力架, 静置 10s, 直至磁珠被全部吸附。

- 6、重复步骤 5。

- 7、在磁场中倒去上清, 按照下述方案清除残留乙醇:

7.1 用吸头吸掉底部和盖子上残留的液体, 并打开离心管盖让乙醇挥发 15min, 等待过程中会有液体再次聚集在管底, 需要再次吸弃。

7.2 瞬时离心后将离心管放回磁力架中, 吸弃管底残余液体, 静置 15min。

注: 1) 酒精挥发的时间与环境风速、温度、残余酒精量等因素有关, 需要根据实际情况进行细微调节, 但不可过度失水, 否则会导致 RNA 溶解困难。

2) 判断清除残留乙醇到合理程度的 3 种方法: A. 把离心管放入磁力架中, 乙醇清除时间 10-15min; B. 把离心管放入磁力架中, 发现反光程度降低到原有一半左右即可; C. 把离心管放入磁力架中, 发现磁珠表面刚出现龟裂时即可。

- 8、加入 50-100 μL Yfxbio®ES, 剧烈震荡或涡旋震荡 10s, 使得磁珠完全重悬。

注: 细胞样本建议用 25-50 μL 洗脱, 如 RNA 浓度过大, 逐步增加洗脱体系。

- 9、将离心管再次置于磁力架上, 澄清的溶液即为 RNA 溶液(可带磁珠保存)。