

动物总 RNA 提取试剂盒（磁珠法）

HX3015

产品简介

动物总 RNA 提取试剂盒（磁珠法）是一种使用新型核酸纯化介质包被的磁珠，可以从动物组织或培养的动物细胞中安全、便捷、稳定、高效、高质量地抽提总 RNA 的试剂盒。动物组织或细胞中的 RNA 按照长度可以分为长链 RNA (long RNA) 和小 RNA (small RNA)，长链 RNA 通常大于 200 nt，而小 RNA 通常小于 200 nt。长链 RNA 按照是否编码蛋白或多肽可以分为长链非编码 RNA (long noncoding RNA, lncRNA) 和 mRNA。小 RNA 主要包括非编码的 5.8S rRNA、5S rRNA、tRNA、microRNA、siRNA、piRNA、tsRNA、srRNA 等。本试剂盒使用安全，通过特殊的磁珠纯化介质进行 RNA 分离纯化，能有效避免传统的 Trizol 法抽提时使用的酚、氯仿等有毒有害有机试剂；使用便捷，采用磁珠纯化，无需繁琐的 RNA 沉淀步骤，抽提操作过程仅 15-20 min。相比于传统的 Trizol 抽提法，本试剂盒的操作流程显著简化，缩短了抽提时间，降低了 RNA 被降解的风险；抽提 RNA 的得率高，抽提效果经反复测试，100 万个 HeLa 细胞能抽提得到约 15-20 μg RNA，20 mg 小鼠肝组织能抽提得到约 25-35 μg RNA，20 mg 小鼠脑组织能抽提得到约 10-20 μg RNA（新鲜样品的得率高于冻存样品）。本试剂盒适用于新鲜或冻存的动物组织或细胞 RNA 的抽提，推荐的细胞用量为 50-100 万（上限可达 500 万），组织用量为 15-20 mg（上限可达 30 mg）。不同的组织或细胞用量上限会有所差别，例如小鼠肝脏组织上限可达 30mg，但肌肉组织上限约为 20 mg。

抽提获得的 RNA 包含大分子量 RNA 和小 RNA (<200 nt)，也常被称为总 RNA (Total RNA)，可以用于各种常规分子生物学和生化检测等用途。抽提得到的 RNA 可用于反转录、RT-PCR、qPCR、Northern、点杂交、纯化 mRNA、体外翻译、RNase protection assay、cDNA 克隆等下游实验；也可用于基因表达芯片分析、高通量测序等对 RNA 质量要求较高的情况。

产品应用

可以从动物组织或培养的动物细胞中安全、便捷、稳定、高效、高质量地抽提总 RNA。

储存条件

除 DNase 和 Reaction Buffer (10X) 以外，室温保存，一年有效。DNase 和 Reaction Buffer (10X) -20°C 保存，一年有效。其中 Buffer Beads 长期不使用时，4°C 保存，可以保存更长时间。

产品信息

组分编号	组分名称	规格 10 T	规格 50 T	规格 200 T
HX3015-1	Buffer Beads (RNA 磁珠悬浮液)	0.2ml	1 ml	4 ml
HX3015-2	Buffer P1 (裂解液)	6 ml	30 ml	120 ml
HX3015-3	Buffer P2 (结合液, 首次使用前加入 1.2/6/24 ml 无水乙醇)	4.8 ml	24 ml	100 ml
HX3015-4	Buffer WB1 (洗涤液 I)	6.5 ml	32 ml	125 ml
HX3015-5	Buffer WB2 (洗涤液 II)	13 ml	63 ml	125 ml×2
HX3015-6	Buffer EB (洗脱液)	1 ml	5 ml	20 ml
HX3015-7	DNase	20 µl	100 µl	400 µl
HX3015-8	Reaction Buffer (10X)	100 µl	500 µl	2 ml

注意事项

1. 需自备磁分离装置。
2. 对于富含 RNase 的样品 (如动物组织), 建议使用前在 Buffer P1 中添加二硫苏糖醇 (Dithiothreitol, DTT) 至终浓度为 40 mM (如 1 ml 裂解液中加入 20 µl 2M DTT) 或 β-巯基乙醇至终浓度为 1% (如 1 ml Buffer P1 中加入 10 µl β-巯基乙醇)。含 DTT 或 β-巯基乙醇的 Buffer P1 可在室温放置 1 个月。
3. 如果不使用试剂盒提供的 DNase I 进行处理, 抽提得到的 RNA 会含有少量的 DNA。后续如进行某些对 DNA 残留较敏感的实验时, 需要在使用说明中步骤 4 后, 在磁珠中加入适量 DNase I 进行消化, 具体请参考使用说明。
4. 建议使用推荐的细胞数或组织量用于 RNA 的抽提, 否则可能导致 RNA Buffer Beads 聚集而使基因组 DNA 消化不充分。如果基因组 DNA 消化不充分, 可以加大 DNase I 的用量或延长孵育时间。
5. 本试剂盒提供的所有试剂都是 RNase-free, 操作时应小心, 避免被 RNase 污染。所有自行准备的试剂和耗材也都应是 RNase-free。如果耗材可能有 RNase 污染, 可考虑用 0.01% 的 DEPC 水浸泡过夜, 然后高温高压灭菌并烘干。操作时应避免对着样品或所使用的试剂盒耗材呼气或说话, 以防 RNase 污染。建议戴一次性口罩操作。
6. 使用冻存的细胞或组织抽提 RNA 的效果通常比新鲜的细胞或组织略差一些。因为在细胞或组织冻融过程中一些细胞或组织内的 RNase 会被释放出来并导致样品中的 RNA 少量或部分降解。
7. Buffer P2 首次使用前要加入无水乙醇, 混匀, 并在瓶上做好标记 (4.8 ml 结合液加入 1.2 ml, 24 ml 结合液加入 6 ml, 100 ml 结合液加入 24 ml 无水乙醇)。

8. 本试剂盒所有操作均在室温进行，操作时无需冰浴。
9. Buffer P2、Buffer WB1、Buffer WB2 中含有一定浓度的乙醇，使用后须旋紧瓶盖以防挥发，并须按照易燃试剂的相关规范进行存放和使用。
10. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明

1. 样品准备：
 - a. 细胞样品：收集 50-100 万左右的细胞。对于悬浮细胞，1000-2000×g 离心 1 min 后弃上清，加入 300 μl Buffer P1，轻轻吹打 8-10 次至固悬物溶解、溶液澄清；对于贴壁细胞，吸净培养液后加入 300 μl Buffer P1，轻轻吹打 5-10 次至固悬物溶解、溶液澄清，转移至一洁净离心管内。
 - b. 组织样品：取 15-20 mg 动物组织，置于液氮中研磨成粉末，立即加入 600 μl Buffer P1。也可将组织置于 1.5 ml 离心管中，迅速加入 600 μl 冰浴预冷的 Buffer P1，用微型电动匀浆器或普通玻璃匀浆器匀浆，轻轻吹打匀浆液 8-10 次，室温放置 3-5 min。然后约 14,000×g 离心 2 min，将上清液移至新的离心管中。对于比较容易裂解且匀浆很充分的组织（如肝组织、脑组织等）可以不用高速离心而直接进入步骤 2。

注：细胞的数量一般不超过 200 万，最多不超过 500 万，不超过 100 万细胞宜使用 300 μl Buffer P1，多于 100 万细胞宜使用 600 μl Buffer P1。动物组织的用量一般不超过 30 mg，用量过多可能会因裂解不充分导致得率下降。组织样品在裂解和离心后，离心管下部可能会有一些胶状物质，宜作为上清转移至下一步操作。如果弃除胶状物，会导致得率下降约 30-50%。后续加入 Buffer P2 后胶状物会消失。离心是为了去除未匀浆充分的明显块状物。如果裂解后仍有粘稠物，需增加吹打次数至溶液完全澄清。对于富含 RNase 的样品，Buffer P1 中宜添加 DTT 至终浓度为 40 mM 或添加 β-巯基乙醇至终浓度为 1%。

2. 加入等体积 Buffer P2 至裂解产物中，轻轻颠倒混匀 3-5 次。此时可能会有沉淀物产生，属于正常现象。
3. 将混合物（包括沉淀物）转移至新的 1.5 ml 离心管内，加入 20 μl Buffer Beads（使用前务必混匀），轻柔混匀后，室温放置 3-5 min。将离心管置于磁力架的磁场中，待磁珠完全聚集后，小心吸除残液。

注：磁珠在使用前一定要涡旋或震荡混匀。如有必要，可适当增加磁珠用量，延长结合时间以提高得率。

4. 加入 600 μl Buffer WB1，轻柔震荡使磁珠分散开，颠倒两次后将离心管置于磁力架的磁场中，待磁珠完全聚集后，尽量吸净残液。
5. **选做：**在 Buffer Beads 中加入 80 μl 含 2 μl DNase 的酶溶液（**每 80 μl 酶溶液按照 70 μl 水加 8 μl Reaction Buffer (10X) 加 2 μl DNase 混合配制而成**），37°C 放置消化 15-30 min。如果略去本步骤，抽提得到的 RNA 会含有少量基因组 DNA。

6. 加入 600 μl Buffer WB2，轻柔震荡使磁珠分散开，颠倒两次后将离心管置于磁力架的磁场中，待磁珠完

全聚集后，尽量吸净残液。

7. 重复步骤 6 一次。
8. 将离心管室温放置 5-10 min，或置于 37°C 鼓风烘箱 5 min，确保残留的乙醇等微量液体完全挥发。
9. 加入 50-100 μ l Buffer EB，轻柔震荡使磁珠悬于溶液中，室温孵育 3-5 min，其间甩动离心管 1-2 次。将离心管置于磁场中，待磁珠完全聚集后，小心吸取溶液至新离心管中，置于 -20°C 保存。所得溶液即为纯化的 RNA。

注：如需获得更高浓度的样品，可把 Buffer EB 的体积减小至 20 μ l，但洗脱下来的 RNA 量会相对减少。室温较低时，洗脱液在 37°C 预热片刻对得率有所帮助。此外，洗脱后的溶液再次加回到原磁珠再洗脱一次，可提高得率约 10-30%；或者在第一次洗脱后使用新的 Buffer EB 再洗脱一次，会获得约为第一次洗脱量 15-40% 的 RNA。