

## 磁珠法动物组织总 RNA 纯化试剂盒说明书

### 产品组成

磁珠法动物组织总 RNA 纯化试剂盒 Cat. No.	10 次	100 次
Buffer RLF	12 ml	55 ml×2
Buffer MG	5 ml	45 ml
Buffer WN	10 ml	100 ml
Buffer WBR (浓缩液)	3 ml×2	30 ml×2
RNase-free Water	1.5 ml	10 ml
说明书	1 份	1 份

### 产品储存

试剂盒如果储存于常温 (0~30°C)，可在两年内保持使用性能无明显变化；如果将产品贮存于 2~8°C，可延长产品的有效期至两年以上。

### 技术支持

杭州新景生物试剂开发有限公司研发部：e-mail: technical@simgen.cn, 电话：400-0099-857。

### 产品介绍

本产品适合从 30~50 mg 动物组织中分离纯化总 RNA。经液氮研碎后的动物组织经 Buffer RLF 预处理后，只需在预处理后的上清液中加入含有磁珠的结合液 Buffer MG，即可用磁力架完成组织总 RNA 的吸附、洗涤及洗脱等一系列过程，最后获得的组织总 RNA 溶解在 RNase-free Water 中，并可立即用于各种分子生物学实验。

### 用户需自备的试剂与物品

1. 无水乙醇
2. RNase-free 1.5 ml 离心管和 2 ml 离心管
3. RNase-free 移液器及吸头（为避免样品间的污染，请选用含有滤芯的移液器吸头）
4. 一次性手套及防护用品和纸巾
5. 磁力架和台式少量离心机（可配离心 1.5 ml 离心管）
6. 水浴锅与旋涡振荡器

### 使用前准备

1. 将水浴锅温度设置到 60°C。
2. 根据试剂瓶标签上的指示在 Buffer WBR 中加入无水乙醇，并在标签的方框中打勾做好“乙醇已加”的标记。
3. 由于唾液、皮肤上均含有 RNA 酶，请在 RNA 提取的全过程中都戴口罩和乳胶手套。
4. 尽量使用离体 3 小时内的新鲜组织进行 RNA 提取，否则将会因为 RNA 的降解而影响最终 RNA 的回收量。如果不能及时将新鲜分离的最进行 RNA 提取，可将组织冷冻于 -70°C 冻存或者将组织切碎后用 RNA 样本保存液（Simgen Cat. No. 4007100）浸泡后于 -20°C 冻存。（详见说明书）

## 操作步骤

1. 在研钵中加入25~50 mg组织，加入液氮，将组织研磨至粉末状，立即加入500  $\mu$ l Buffer RLF，待溶液重新液化后再研磨数次，将匀浆液转移至1.5 ml离心管中，若匀浆液不足500  $\mu$ l，可补加Buffer RLF至500  $\mu$ l，再旋涡振荡混匀。也可在加入Buffer RLF的情况下用匀浆器或研磨珠研磨组织。
  - \* 必须将组织研磨成面粉一样的粉末状，否则会严重影响 RNA 的回收率。
  - \* 研磨组织时应及时补加液氮，避免组织融化，以免内源性的 RNA 酶恢复活性而降解 RNA。
2. 最高速离心 2 分钟。吸取 500  $\mu$ l 上清液，转移到一个洁净的 RNase-free 1.5 ml 离心管中。
  - \* 如果组织中脂肪含量较高，可将离心时间延长至 15 分钟，促使脂肪凝集于上清液顶部分层，注意转移上清时不要带入脂肪和离心管底部的不溶物。
3. 用力摇晃装有 Buffer MG 的试剂瓶使溶液中的磁珠被充分悬浮，然后加 400  $\mu$ l Buffer MG（含磁珠）到步骤 2 装有上清液的离心管中，旋涡振荡 3~5 分钟混合均匀。
  - \* 加入 Buffer MG 后至少需要旋涡振荡 3 分钟，否则会因为磁珠无法充分吸附溶液中的 RNA 而导致最终 RNA 的回收率低。
  - \* 必须充分悬浮 Buffer MG 中的磁珠，否则会由于加入的磁珠用量不足而影响 RNA 的吸附效率。
4. 将 1.5 ml 离心管放入磁力架，静置片刻，待磁珠全部吸附到离心管管壁上，吸弃离心管中溶液，保留离心管管壁上的磁珠。
  - \* 可低速离心数秒使 1.5 ml 离心管管盖上的残留液体汇集到离心管中后再放入磁力架。
5. 在离心管中加入 800  $\mu$ l Buffer WN，旋涡振荡 3 分钟混匀。将 1.5 ml 离心管放入磁力架，静置片刻，待磁珠全部吸附到离心管管壁上，吸弃离心管中溶液，保留离心管管壁上的磁珠。
6. 在离心管中加入 900  $\mu$ l Buffer WBR，旋涡振荡 1 分钟混匀。将 1.5 ml 离心管放入磁力架，静置片刻，待磁珠全部吸附到离心管管壁上，吸弃离心管中溶液，保留离心管管壁上的磁珠。
  - \* 确认在 Buffer WBR 中已经加入无水乙醇。
  - \* 可低速离心数秒使 1.5 ml 离心管管盖上的残留液体汇集到离心管中后再放入磁力架。
7. 重复步骤 6 一次。
8. 在离心管中加入 1ml Buffer 无水乙醇，旋涡振荡 1 分钟混匀。将 1.5 ml 离心管放入磁力架，静置片刻，待磁珠全部吸附到离心管管壁上，吸弃离心管中溶液，保留离心管管壁上的磁珠。
9. 低速离心数秒使离心管中的残留液体汇集到离心管底部，用 200  $\mu$ l 移液器仔细吸弃残留在离心管中的洗液，保留离心管管壁上的磁珠，室温静置 5-10 分钟晾干磁珠。
10. 在磁珠上加入 50~80  $\mu$ l RNase-free Water，盖上管盖，旋涡振荡数秒，60°C 水浴 3 分钟。
  - \* 延长 60°C 水浴时间至 10 分钟，期间每隔 2-3 分钟旋涡振荡数秒，能提高 RNA 的洗脱效率。
11. 将 1.5 ml 离心管放入磁力架，静置片刻，待磁珠全部吸附到离心管管壁上。吸取 RNA 溶液，转移到一个洁净的 RNase-free 1.5 ml 离心管中，获得的 RNA 可立即用于 RT-PCR 检测，或者将 RNA 储存于 -80°C 以下备用。