

伯优®动物组织总RNA(含miRNA)提取试剂盒(磁珠法) 使用说明书

产品货号:72405-50

Ver 25.03

【产品介绍】

本产品基于磁珠纯化技术,适用于从动物组织、培养细胞等样本中分离纯化包含miRNA的总RNA,具有简单快捷、核酸纯度高等优点。本产品可手动操作,亦可配合自动化提取设备使用,得到的RNA可直接用于定量PCR及二代测序等常规实验。

【产品组分】

72405-50 (50 rxns)	产品组分	组分货号	规格	数量
72405-50	磁珠H2	NR-23-001	0.5 mL	1
	BioU-Zol裂解液	NR-23-010	50 mL	1
	洗液H2	NR-23-009	20 mL	1
	无酶水	NR-23-005	6 mL	1

【储存条件】

试剂盒开封前, 2~8℃保存。

试剂盒开封后, 各组分储存条件如下:

组分	储存条件
磁珠H2	2~8℃保存
BioU-Zol裂解液	2~8℃, 避光保存
洗液H2	室温保存
无酶水	室温保存

【有效期】

12个月

【注意事项】

- 1.磁珠H2:不可冷冻,不可离心,在使用前需涡旋振荡30秒以上使磁珠重悬混匀。
- 2.洗液H2:第一次使用前请按照试剂瓶标签的说明在洗液中加入无水乙醇并做好标记。

【实验所需材料(未包含)】

试剂:氯仿、无水乙醇。

仪器:组织研磨工具(如研钵、电动匀浆仪等)、低温离心机、磁力架(1.5或2 mL)或自动化提取设备。

耗材:1.5 mL离心管、2 mL离心管、96孔深孔板、磁棒套。



【实验前准备】

1. 确认洗液H2中已加入80 mL无水乙醇。
2. 预冷的氯仿。
3. 低温离心机预冷至4°C。

【实验流程】

● 样本处理

A. 动物组织 (研钵研磨)

1. 研钵中加入适量液氮, 取5~25 mg组织充分研磨。
2. 加入1 mL BioU-Zol裂解液, 使用移液器充分吹打混匀后, 将裂解液转移至2 mL离心管中, 室温静置15分钟。

B. 动物组织 (电动匀浆仪研磨)

1. 在2 mL离心管中加入1 mL BioU-Zol裂解液。
2. 取5~25 mg组织加入裂解液中, 使用电动匀浆仪研磨组织直至无明显组织块, 室温静置15分钟。

C. 贴壁细胞

1. 弃培养皿中的培养基, 使用1×PBS清洗细胞, 弃PBS。
2. 培养皿中加入1 mL BioU-Zol裂解液, 使用移液器吹打使细胞脱落, 将裂解液转移至2 mL离心管中, 室温静置15分钟。

*亦可使用胰酶消化收集细胞, 按悬浮细胞的方法处理样本。

D. 悬浮细胞

1. 收集细胞至离心管, 离心后弃培养基。
2. 使用1×PBS清洗细胞, 并转移细胞至2 mL离心管中, 弃PBS。
3. 加入1 mL BioU-Zol裂解液, 使用移液器充分吹打混匀, 室温静置15分钟。

*如果样本裂解后无法在短时间内提取总RNA, 可将含有样本的裂解液暂存于4°C冰箱中避光保存, 暂存时间不超过6小时。

● miRNA提取

A. 手工提取

1. 加入200 μL预冷的氯仿, 振荡混匀。将离心管放入低温离心机中, 4°C 16,000 × g离心15 min。
2. 小心吸取400 μL上层水相至新的1.5 mL离心管中, 注意不要吸到蛋白层和有机层。
3. 加入420 μL 无水乙醇和10 μL磁珠H2。振荡混匀, 室温孵育10分钟。
4. 将离心管置于磁力架上, 静置5分钟, 待溶液澄清后, 小心移除上清。
5. 加入500 μL 洗液H2, 振荡混匀。将离心管置于磁力架上, 静置1分钟, 待溶液澄清后, 小心移除上清。
6. 重复步骤5一次。
7. 瞬时离心磁珠, 将离心管置于磁力架上, 小心吸尽上清。
8. 离心管开盖10分钟, 空气干燥磁珠。
9. 加入50~100 μL 无酶水, 振荡混匀。室温静置5分钟。
10. 将离心管置于磁力架上, 静置3分钟, 待溶液澄清后, 吸取上清液至新的1.5 mL离心管中。
11. 提取的miRNA可直接用于下游实验, 或于-20°C保存一周。如需长期保存, 需存放于-80°C冰箱。

*可将离心管开盖放置于通风橱中, 有利于磁珠干燥。



B. 自动化提取

1. 自动化仪器设置 (适用于32T自动化提取设备)

步骤	名称	孔位	等待时间 (mm:ss)	混合方式	混合时间 (mm:ss)	吸磁时间 (mm:ss)	吸附方式
1	Bind	1	--:--	快速	10:00	强力	02:00
2	Wash1	2	--:--	快速	01:00	强力	01:00
3	Wash2	3	--:--	快速	01:00	强力	01:00
4	Elution	4	05:00	快速	05:00	强力	01:00
5	Discard	1	--:--	慢速	00:30	强力	--:--

加热设置:关

*不同自动化设备的仪器设置不同,首次使用前需咨询设备工程师。

2.加入200 μ L预冷的氯仿,振荡混匀。将离心管放入低温离心机中,4°C 16,000 $\times$ g离心15 min。

3.在96孔深孔板中加入各组分试剂:

孔位 (列)	试剂名称	每孔体积 (μ L)
1/7	无水乙醇	420
1/7	磁珠H2	10
2/8	洗液H2	500
3/9	洗液H2	500
4/10	无酶水	50~100

4.小心吸取400 μ L上层水相至96孔深孔板第1列和第7列中,注意不要吸到蛋白层和有机层。

5.将96孔深孔板放入自动化提取仪中,放置磁套,启动程序。

6.程序运行结束后,取出96孔深孔板,吸取第4/10列中的溶液至新的1.5 mL离心管中。

7.提取的miRNA可直接用于下游实验,或于-20°C保存一周。如需长期保存,需存放于-80°C冰箱。

