

YALEPIC[®] 磁珠法动物细胞/组织总 RNA 提取试剂盒

YALEPIC[®] MagEVO Animal Cell & Tissue Total RNA Extraction Kit

产品货号: YMR91001

产品保存及运输条件:

DNase I 及 10× DN Buffer, 低温运输, -20°C 保存。其他组分常温运输; 其他组分 10 ~ 30°C 室温保存。

产品概述

YALEPIC[®] MagEVO Animal Cell & Tissue Total RNA Extraction Kit 试剂盒提供了一种简单、快速、高效的从细胞或者组织中提取 RNA 的方法。独特的缓冲体系使裂解液中的核酸高效特异地结合在磁珠上, 提取的核酸纯度高, 质量稳定, 不含蛋白质、核酸酶和其他杂质, 适用于各种分子生物学应用, 包括 PCR、荧光定量 PCR 等多种实验。

产品组分

序号	产品组分	YMR91001 (96 T)
①	YT Buffer	51 ml
②	YTP Buffer	13 ml
③	Wash Buffer RA	55 ml
④	Wash Buffer RB	30 ml
⑤	Nuclease-free ddH ₂ O	12 ml
⑥	Magbeads MC	3 × 1.6 ml
⑦	DNaseI	2 × 1000 U
⑧	10× DN Buffer	2×1 ml

适用范围

动物组织: 15~ 25 mg

培养细胞: ≤ 1×10⁷ 个。

自备试剂及仪器

无水乙醇；异丙醇；液氮；涡旋混匀仪或振荡破碎仪；2/15ml 磁力架或核酸提取仪；6孔深孔耗材及架托；96深孔板；磁棒套；Nuclease-free 移液器吸头；Nuclease-free 1.5 ml/2.0ml 离心管；高速离心机；恒温混匀仪；恒温水浴锅等。

实验准备

1. 使用本试剂盒前做好防护措施，穿戴实验服、手套、口罩等，与常规 RNA 实验操作环境一致。
2. 使用 Nuclease-free 的移液器吸头和消耗品，配制溶液应使用 RNase-free ddH₂O，试剂使用完后立即盖好瓶盖，避免交叉污染的风险。
3. 本试剂盒试剂含有胍盐成分，其具有腐蚀性和刺激性，如体表不慎接触到该试剂，立即用大量清水冲洗；若情况严重需就医。
4. 本试剂盒适用于组织及细胞的提取纯化。使用新鲜样本，若不能及时提取，将样本立即置于液氮中，速冻后于 -85 ~ -65°C 保存，并避免反复冻融。
5. 首次使用前，向 **Wash Buffer RB** 中加入瓶标签指定体积的无水乙醇。试用装 (16T) 中 **Wash Buffer RB** 已含无水乙醇，使用后请立即盖好瓶盖防止乙醇挥发。
6. **Magbeads MC** 请勿冻存及高速离心，使用前只需涡旋振荡数秒混匀。
7. 样本破碎需彻底，否则会影响 RNA 的产量。
8. RNA 易降解，建议提取后尽快进行后续实验，如暂时不使用可放置于 -85 ~ -65°C 保存。

实验流程

● 手动操作 (配磁力架)

1. 样本处理：
 - A. 细胞预处理：悬浮细胞 12,000 ×g 离心 1 min 去除上清；贴壁细胞 PBS 处理为悬液后 12,000 ×g 离心 1 min 去除上清。用 500 μl **YT Buffer** 悬浮细胞，立即涡旋混匀至无细胞团块；
 - B. 组织预处理：取 15 ~ 25 mg 左右组织，在液氮或冷冻研磨仪中磨成粉末后，加入 500 μl **YT Buffer**，涡旋振荡至无明显团块；（注：由于脾脏、肝脏、肾等组织核酸含量较高，样本投入量请勿超过 20 mg，否则可能降低 RNA 产量或导致基因组残留）
2. 涡旋充分重悬混匀，静置 5 min 后，4°C，12,000 rpm 离心 5 min。将上清液转移至新的离心管（自备）中。
3. 加入 120 μl **YTP Buffer**、300 μl 异丙醇（自备）和 50 μl **Magbeads MC**，涡旋混匀 5s 后，将离心管置于 25°C、1,600 rpm 的恒温混匀仪上振荡混匀 5~8 min。（注：如果没有恒温混匀仪，可将离心管颠倒混匀 5~8 min）
4. 将离心管置于磁力架上静置 2 min，待磁珠完全吸附后，吸弃溶液。

5. 取下离心管,向管中加入 500 μl **Wash Buffer RA**,涡旋混匀 5 s 后,置于 25°C、1,600 rpm 的恒温混匀仪上振荡 1 min。之后将离心管放于磁力架上静置 2 min,待磁珠完全吸附后,缓慢颠倒磁力架将离心管盖上的物质洗落,彻底弃去溶液。
6. 配制 **DNase I 反应液**:取 52 μl **Nuclease-free ddH₂O**,向其中加入 20 μl **DNase I** (1 U/ μl) 及 8 μl **10 \times DN Buffer**,混匀配制成终体积为 80 μl 的反应液。(如有多个样本,可按样本量配制预混液)
7. 向离心管中加入 80 μl 配制好的 **DNase I 反应液**,涡旋混匀 5 s 后,20 ~ 30°C 孵育 8~10 min。
8. 向管中加入 700 μl **Wash Buffer RB** (使用前检查是否加入无水乙醇),涡旋混匀 5 s 后,放于 25°C、1,600 rpm 的恒温混匀仪上振荡 1 min。之后将离心管置于磁力架上静置 2 min,待磁珠完全吸附后,缓慢颠倒磁力架将离心管盖上的物质洗落,彻底弃去溶液。重复本步骤一次。
9. 用移液器吸弃管底和管盖上的溶液。保持离心管固定于磁力架上静置 5 min,使乙醇充分挥发。
(注:乙醇残留会影响后续的酶促反应,应将残余的乙醇彻底去除。如果离心管侧壁上有液珠,可向离心管中加入 800 μl 无水乙醇。盖盖后颠倒磁力架充分洗涤,之后彻底弃去无水乙醇)
10. 将离心管从磁力架上取下,向离心管中加入 50 ~ 70 μl **Nuclease-free ddH₂O**,涡旋振荡混匀后将离心管放于 56°C、1,600 rpm 的恒温混匀仪上振荡 10 min (或将离心管放于 56°C 水浴锅中孵育 10 min,期间每隔 3 min 涡旋振荡 10 s)。
11. 将离心管放置于磁力架上静置 2 min,待 Magbeads 完全吸附后,用移液器将洗脱液转移至新的 1.5 ml Nuclease-free 离心管中,如不立即进行下游实验,可置于 -85 ~ -65°C 保存。

● **全自动核酸纯化仪：**

(根据选用仪器型号进行试剂分装及程序设定，以下流程以 YALEPIC® Pure 32 通道全自动核酸提取仪为例进行步骤说明)

1. 参考手动操作步骤 1~2，获得**处理后样本上清液**。
2. 参考手动操作步骤 6 配制 **DNase I 反应液**。
3. 按下表向 96 深孔板中加入试剂：

列 数	试 剂	体 积
第 1、7 列	YTP Buffer	120 μ l
	异丙醇 (自备)	300 μ l
	处理后样本上清液	约 500 μ l
第 2、8 列	Wash Buffer RA	500 μ l
第 3、9 列	DNase I 反应液	80 μ l
第 4、10 列	Wash Buffer RB (使用前检查是否加入无水乙醇)	700 μ l
第 5、11 列	Wash Buffer RB (使用前检查是否加入无水乙醇)	700 μ l
	Magbeads MC	50 μ l
第 6、12 列	Nuclease-free ddH ₂ O	70 μ l

2. 将加好样本的深孔板放入核酸提取仪中，装上磁棒套，确认磁棒套安装到位后，即可启动程序 **YMR91001 Animal RNA.ABC**。
3. 程序结束后，取出深孔板，将第 6、12 列中的洗脱液转移至新的 1.5 ml Nuclease-free 离心管 (自备) 中，如不立即进行下游实验，可置于 -85 ~ -65°C 保存。

产品仅供研究使用，请勿用于临床诊断