

组织/细胞总RNA提取试剂盒 (BW-MR6311)

本试剂盒提供了一种简便快速的方法，可在30分钟内从组织、培养细胞内分离总RNA。纯化后的RNA中只存在微量的基因组DNA。本试剂盒可从真核细胞或动物组织中提取到至多100 µg总RNA。纯化后的RNA可用于RT-PCR、Northern杂交、polyA⁺ RNA纯化、核酸酶保护和体外翻译。

KIT CONTENTS

Catalog#	BW-MR6311-A00		BW-MR6311-A32-32		BW-MR6311-A32		BW-MR6311-A96	
	Manual operation		Well position		Well position		Plate position	
Preps	10T	50 T	1Tx32		1x32T		1x96T	
Buffer LY	6 mL	28 mL	8mL		8mL		25mL	
			Well 1	400 µL	Column 1/7	400 µL	Plate 2	400 µL
MgPure Beads	0.25mL	1.1 mL	Well 2	400 µL	Column 2/8	400 µL	Plate 3	400 µL
Buffer MKB	6 mL	33 mL	Well 3	600 µL	Column 3/9	600 µL	Plate 4	600 µL
RNA Wash Buffer	3 mL	20 mL	Well 4	800 µL	Column 4/10	800 µL	Plate 5	800 µL
RNA Wash Buffer	-	-	Well 5	800ul	Column 5/11	800ul	Plate 6	800µL
DEPC-treated ddH2O	1 mL	6 mL	Well 6	80 µL	Column 6/12	80 µL	Plate 8	80 µL
Tip Comb		-		8		4		1

*BW-MR6311-A32 and BW-MR6311-A32-32 为8联磁棒套, BW-MR6311-A96 为96孔磁棒套

产品贮存及稳定性

本试剂盒自购买之日起可保存12个月。所有试剂及用品可保存于室温（15-25℃）。

要点

RNA Wash Buffer: 使用前请将12 mL（BW-MR6311-00）或80 mL（BW-MR6311-01）

Buffer LY: 使用前确定Buffer LY的用量，在每1 mL Buffer LY内加入20 µL的β-巯基乙醇，可在室温放置1个月。Buffer LY有可能形成结晶，使用前请于37℃溶解。

在室温下进行所有操作步骤。尽可能快速操作，减少RNA降解。

组织样品的破坏和匀浆化

为了获得高质量的RNA，对样品进行完全和适当的破坏和均质化是至关重要的。均质化是为了通过剪切基因组DNA和其他高分子量细胞成分来降低粘度。不完全的均质化可能导致柱子堵塞，从而降低RNA得率。

1. 样品通过研钵和研杵破坏

立即切除组织并冷冻于液氮中，在液氮存在下，用陶瓷研钵和研杵将样品研磨成细粉，将悬浮液转移至液氮预冷的离心管内，让液氮蒸发，同时样品保持冷冻状态，在样品解冻前加入Buffer LY。

2. 使用homogenization columns均质化

利用Biomiga的homogenization column对样品进行均质化是一种快速、有效的方法。每个柱子可以上样700 µL。Homogenization column (Catalog#R1800) 可从Biomiga单独购买。

3. 通过转子-定子对样品破坏和匀浆

使用合适大小的转子和定子，对大部分样品进行破坏和匀浆化。

4. 通过glass beads研磨破坏样品和均质化

在Buffer LY中加入glass beads，快速研磨可使细胞和组织被破坏并均质化。动物组织使用4-8 mm的glass beads，酵母细胞使用0.5 mm的glass beads，细菌样品使用0.1 mm的glass beads。

确定样品使用量

得率取决于细胞的量使用和组织使用量。请参考表1来决定样品使用量并预估得率。

表1. 典型的RNA得率

样品	10 mg/500 µL Buffer HLY	总RNA得率 (µg)
肝	10 mg	50 (10 mg组织)
肾	10 mg	20-30 (10 mg组织)
肌肉*	10 mg	20 (10 mg组织)
脾	10 mg	30-40 (10 mg组织)
心脏*	10 mg	50 (10 mg组织)
脑**	10 mg	80 (10 mg组织)
肺	10 mg	10-20 (10 mg组织)
胰腺	10 mg	20 (10 mg组织)
HeLa细胞	1×10 ⁶	15 (1×10 ⁶ 细胞)
293HEK	1×10 ⁶	12 (1×10 ⁶ 细胞)
COS-7	1×10 ⁶	30 (1×10 ⁶ 细胞)
NIH/3T3	1×10 ⁶	10 (1×10 ⁶ 细胞)

***注:** 由于富含结缔组织、胶原蛋白和收缩蛋白，使用常规的RNA分离步骤，通常很难从心脏、肌肉、皮肤组织中分离到RNA。通过加入Proteinase K优化，使得上述的蛋白被去除。针对心脏、肌肉、皮肤组织，我们建议使用Biozol RNA纯化试剂盒 (BW-R7311)。

****注:** 为了从富含脂肪的动物组织中分离RNA，例如胸腺和脑组织，我们建议使用Biozol RNA 纯化试剂盒 (BW-R7311)。

操作步骤（从细胞中提取总RNA）

1. 细胞准备：（不要超过5×10⁶个细胞）

悬浮培养细胞: 确定细胞数目, 300 ×g离心5 min收集细胞。吸尽所有上清液, 快速进行步骤2。尽量快速操作减少RNA降解。

贴壁培养细胞: 确定细胞数目, 用移液管将培养基完全去除干净, 快速进行步骤2。

注: 上清液必须去除干净, 残留的上清液可能抑制细胞裂解, 从而影响RNA得率。

2. **悬浮培养细胞:** 轻弹管子, 使细胞颗粒松散, 加入**500 µL Buffer LY**。

贴壁培养细胞: 直接在培养皿内加入**500 µL Buffer LY**。使用移液管将细胞裂解液混合, 转移至1.5 mL管内。

注: 确定Buffer LY的使用量, 每1 mL Buffer LY加入20 µL的β-巯基乙醇。Buffer LY/β-巯基乙醇混合物可在室温放置1个月。

3. 通过大力涡旋或反复吹吸使裂解液, 直至样品完全均质化。

4. 取上述样本匀浆500µL, 加入**400 µL 异丙醇**和**20 µL Mgpure beads**, 涡旋混匀1 min左右。

注: Mgpure beads使用前需充分涡旋混匀。

5. 混匀后室温静置5-10 min, 期间需手动或涡旋混匀3-5次, 之后上磁力架静置1 min左右 (确保所有磁珠被吸附即可), 弃去上清液, 保留磁珠。

注: 孵育期间一直混匀有助于提高得率。

6. 从磁力架上取下离心管, 加入**600 µL Buffer MKB**, 涡旋混匀1 min, 之后上磁力架静置1 min (确保所有磁珠被吸附即可), 弃去上清液, 保留磁珠。

7. 从磁力架上取下离心管, 加入**800 µL RNA Wash Buffer** (确保加入96-100%乙醇), 涡旋混匀1 min, 之后上磁力架静置1 min (确保所有磁珠被吸附即可), 弃去上清液, 保留磁珠。重复此步骤。

注: RNA Wash Buffer使用前请加入瓶身相应的 96-100%乙醇。

8. 在磁力架上晾干5-10 min。除残留乙醇, 以便获得最佳洗脱。

注: 要注意观察磁珠是否过于干燥, 过于干燥会影响洗脱效果。

9. 从磁力架上取下离心管, 加入**50-100 µL DEPC-treated ddH₂O** (65℃水浴锅预热), 涡旋混匀1 min, 孵育5 min (可于室温或65℃孵育), 期间混匀1-2次再上磁力架, 静置2 min左右 (确保所有磁珠被吸附即可), 吸取澄清的液体 (产物) 至无菌离心管中, 检测后于-20℃或-80℃保存。

操作步骤 (从动物组织中提取总RNA)

1. 根据表1快速称量合适的组织, 立即转移至含有**500 µL Buffer LY** (使用前加入β-巯基乙醇) 的1.5 mL离心管, 立即涡旋混匀, 室温静置5min, 12,000rpm离心5min, 小心吸取上清。

注: 确定Buffer LY的使用量, 每1 mL Buffer LY加入20 µL的β-巯基乙醇。Buffer LY/β-巯基乙醇混合物可在室温放置1个月。

注: 每个RNA Column不要使用超过30 mg的组织, 否则会导致基因组污染以及不充分消化。

2. 取上述样本匀浆500µL, 加入**400 µL 异丙醇**和**20 µL Mgpure beads**, 涡旋混匀1 min左右。

注: Mgpure beads使用前需充分涡旋混匀。

11. 混匀后室温静置5-10 min, 期间需手动或涡旋混匀3-5次, 之后上磁力架静置1 min左右 (确保所有磁珠被吸附即可), 弃去上清液, 保留磁珠。

注: 孵育期间一直混匀有助于提高得率。

3. 从磁力架上取下离心管, 加入**600 µL Buffer MKB**, 涡旋混匀1 min, 之后上磁力架静置1 min (确保所有磁珠被吸附即可), 弃去上清液, 保留磁珠。

4. 从磁力架上取下离心管, 加入**800 µL RNA Wash Buffer** (确保加入96-100%乙醇), 涡旋混匀1 min, 之后上磁力架静置1 min (确保所有磁珠被吸附即可), 弃去上清液, 保留磁珠。重复此步骤。

注: RNA Wash Buffer使用前请加入瓶身相应的 96-100%乙醇。

5. 在磁力架上晾干5-10 min。除残留乙醇, 以便获得最佳洗脱。

注: 要注意观察磁珠是否过于干燥, 过于干燥会影响洗脱效果。

6. 从磁力架上取下离心管, 加入**50-100 µL DEPC-treated ddH₂O** (65℃水浴锅预热), 涡旋混匀1 min, 孵育5 min (可于室温或65℃孵育), 期间混匀1-2次再上磁力架, 静置2 min左右 (确保所有磁珠被吸附即可), 吸取澄清的

液体（产物）至无菌离心管中，检测后于-20℃或-80℃保存。

核酸提取仪（倍沃医学 BW Express 16 和奥盛 Auto-Pure 32A）（BW-MR6311-A32-32）

悬浮培养细胞：轻弹管子，使细胞颗粒松散，加入**200 μ L Buffer LY**。

贴壁培养细胞：直接在培养皿内加入**200 μ L Buffer LY**。使用移液管将细胞裂解液混合，转移至1.5 mL管内。

通过大力涡旋或反复吹吸使裂解液，直至样品完全均质化，室温静置 5min，12000rpm 离心 5min，小心吸取上清转移至预装板中。

组织样本：根据表1快速称量合适的组织，立即转移至含有**200 μ L Buffer LY**（使用前加入 β -巯基乙醇）的1.5 mL离心管，立即涡旋混匀，室温静置5min，12,000rpm离心5min，小心吸取上清转移至预装板中。

以上操作完成后进入上机步骤

Table 1. Recommended program for Auto-Pure 32A Nucleic Acid Purification System

Step	Well	Name	Mix time (min)	Magnet (sec)	Wait time (min)	Vol. (μ L)	Mix speed (1- 10)	Temp. ($^{\circ}$ C)	Mix pos (0- 100%)	Mix amp (1- 100%)	Magnet pos (0- 100%)	Magnet speed (1- 10)
1	1	Lysis	5	0	0	1000	10	85	0	80	0	1
2	2	Beads	0.3	10	0	800	8	OFF	0	80	0	1
3	1	Bind	5	40	0	800	9	100	0	80	0	1
4	3	Wash1	1	10	0	600	9	OFF	0	80	0	1
5	4	Wash2	1	10	0	800	9	OFF	0	80	0	1
6	5	Wash3	1	10	1	800	9	OFF	0	80	0	1
7	6	Elute	5	60	0	80	10	70	0	80	0	1
8	4	Drop	0.5	0	0	800	8	OFF	0	80	0	1

Note: Set ‘Heating synchronization’, ‘Cool Fan Disabled’, ‘Cooling synchronization’, and ‘Drying Fan Disabled’

Nucleic acid extractor（BEIWO BW Express 16 or an Allsheng Auto-Pure 32A）（BW-MR6311-A32）

悬浮培养细胞：轻弹管子，使细胞颗粒松散，加入**200 μ L Buffer LY**。

贴壁培养细胞：直接在培养皿内加入**500 μ L Buffer LY**。使用移液管将细胞裂解液混合，转移至1.5 mL管内。

注：确定Buffer LY的使用量，每1 mL Buffer LY加入20 μ L的 β -巯基乙醇。Buffer LY/ β -巯基乙醇混合物可在室温放置1个月。

通过大力涡旋或反复吹吸使裂解液，直至样品完全均质化，室温静置 5min，12000rpm 离心 5min，小心吸取上清转移至预装板中。

组织样本：根据表1快速称量合适的组织，立即转移至含有**500 μ L Buffer LY**（使用前加入 β -巯基乙醇）的1.5 mL离心管，立即涡旋混匀，室温静置5min，12,000rpm离心5min，小心吸取上清转移至预装板中。

注：确定Buffer LY的使用量，每1 mL Buffer LY加入20 μ L的 β -巯基乙醇。Buffer LY/ β -巯基乙醇混合物可在室温放置1个月。

以上操作完成后进入上机步骤

Table 2. Recommended program for Auto-Pure 32A Nucleic Acid Purification System

Step	Well	Name	Mix time (min)	Magnet (sec)	Wait time (min)	Vol. (μ L)	Mix speed (1-10)	Temp. ($^{\circ}$ C)	Mix pos (0- 100%)	Mix amp (1- 100%)	Magnet pos (0- 100%)	Magnet speed (1- 10)
1	1	Lysis	5	0	0	100	10	85	0	80	0	1



2	2	Beads	0.3	10	0	800	8	OFF	0	80	0	1
3	1	Bind	5	40	0	800	9	100	0	80	0	1
4	3	Wash1	1	10	0	600	9	OFF	0	80	0	1
5	4	Wash2	1	10	0	800	9	OFF	0	80	0	1
6	5	Wash3	1	10	1	800	9	OFF	0	80	0	1
7	6	Elute	5	60	0	80	10	70	0	80	0	1
8	2	Drop	0.5	0	0	800	8	OFF	0	80	0	1

Note: Set 'Heating synchronization', 'Cool Fan Disabled', 'Cooling synchronization', and 'Drying Fan Disabled'

Nucleic acid extractor (Allsheng Auto-Pure 96A) (BW-MR6311-A96)

悬浮培养细胞: 轻弹管子, 使细胞颗粒松散, 加入**200 μ L Buffer LY**。

贴壁培养细胞: 直接在培养皿内加入**500 μ L Buffer LY**。使用移液管将细胞裂解液混合, 转移至1.5 mL管内。

注: 确定Buffer LY的使用量, 每1 mL Buffer LY加入20 μ L的 β -巯基乙醇。Buffer LY/ β -巯基乙醇混合物可在室温放置1个月。

通过大力涡旋或反复吹吸使裂解液, 直至样品完全均质化, 室温静置 5min, 12000rpm 离心 5min, 小心吸取上清转移至预装板中。

组织样本: 根据表1快速称量合适的组织, 立即转移至含有**500 μ L Buffer LY** (使用前加入 β -巯基乙醇) 的1.5 mL离心管, 立即涡旋混匀, 室温静置5min, 12,000rpm离心5min, 小心吸取上清转移至预装板中。

注: 确定Buffer LY的使用量, 每1 mL Buffer LY加入20 μ L的 β -巯基乙醇。Buffer LY/ β -巯基乙醇混合物可在室温放置1个月。

以上操作完成后进入上机步骤

Table3. Recommended program for Auto-Pure 96 Nucleic Acid Purification System

Step	Name	Plate	Mix Time (min)	Mix Amp (%)	Wait Time (min)	Vol. (μ L)	Mix Speed (1-10)	Temp. ($^{\circ}$ C)	Seg-ments (0-5)	1st Seg. time (s)	2nd Seg. time (s)	3rd Seg. time (s)	4th Seg. time (s)	5th Seg. time (s)	Cycle times (1-10)	Mag. speed (1-10)	Lip-lvl (0-30s)	Anti-Splash (0-30s)
1	Load	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	Lysis	2	5	80	0	1000	9	85	0	-	-	-	-	-	-	-	0	0
3	Beads	5	0.3	80	0	400	4	OFF	1	10	-	-	-	-	1	1	0	0
4	Bind	2	5	80	0	1000	10	OFF	2	10	10	-	-	-	1	1	0	0
5	Wash1	3	2	80	0	600	10	OFF	1	10	-	-	-	-	1	1	0	0
6	Wash2	4	1	80	0	800	10	OFF	1	10	-	-	-	-	1	1	0	0
7	Wash3	7	1	80	1	800	10	OFF	1	10	-	-	-	-	1	1	0	0
8	Elute	8	2	80	0	100	3	70	1	20	-	-	-	-	1	1	0	0
9	Unload	6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Note: Set 'Heating synchronization', 'Cool Fan Disabled', 'Cooling synchronization', and 'Drying Fan Disabled'

购买须知

根据说明书使用时，本产品应按其标签和倍沃的文献中所述执行。倍沃不提供任何其他类型的明示或暗示，包括但不限于适销性或适合某一特定目的的保证。在选择倍沃时，违反本保证的，倍沃唯一的义务和买方的唯一补救措施是更换产品，倍沃应当没有任何直接或间接的，或使用引起的附带损害，或无法使用它产品的责任。如需技术支持或了解更多产品信息，请致电与我们联系，或访问我们的网站



全国服务热线: [400-115-2855](tel:400-115-2855)

技术邮箱: tech@beiwobiomedical.com

市场邮箱: market@beiwobiomedical.com

倍沃官网: www.beiwobiomedical.com