

版本号: DP240821

# Magnetic Hi-Tissue/Cell Total RNA Kit

## 磁珠法高效组织/细胞总RNA提取试剂盒

目录号: DP771

### 产品内容

	产品组成	DP771 (96 preps)
DP 771	RNASTORE样本保存液 (RNASTORE Reagent)	12 ml
	缓冲液TSA (Buffer TSA)	70 ml
	蛋白酶K (Proteinase K)	2×1 ml
	结合增强剂ICBP (Buffer ICBP)	35 ml
	磁珠悬浮液BE (100 mg/ml) (MagAttract Suspension BE (100 mg/ml))	2×1 ml
	缓冲液RDC (Buffer RDC)	90 ml
	缓冲液RW1A (Buffer RW1A)	200 ml
	漂洗液RW4 (Buffer RW4)	90 ml
	漂洗液RW (Buffer RW)	20 ml
	无RNA酶双蒸水 (RNase-Free ddH <sub>2</sub> O)	30 ml
RT431	RNase-Free DNase I (1500 U)	1 支
	无RNA酶双蒸水 (RNase-Free ddH <sub>2</sub> O)	1 ml

备注: DP 771和RT431组分独立运输和储存。

### 储存条件

该试剂盒所有组分置于室温（15-30°C）干燥条件下，可保存15个月。RNase-Free DNase I, RNase-Free ddH<sub>2</sub>O置于2-8°C，可保存15个月。

## 产品简介

本试剂盒采用具有独特分离作用的磁珠和独特的缓冲液系统，从组织、细胞中分离纯化高质量总RNA。独特包埋的磁珠，在一定条件下对核酸具有很强的亲和力，而当条件改变时，磁珠释放吸附的核酸，能够达到快速分离纯化核酸的目的。

本产品可与多款自动核酸提取仪契合，通过特制的磁棒吸附、转移和释放磁珠，从而实现磁珠和核酸的转移，提高了自动化程度。整个实验过程安全、便捷，提取的总RNA纯度高。如果需要高通量自动化提取，天根公司可以提供整合方案。

使用本试剂盒纯化的RNA适用于RT-PCR、Real Time RT-PCR、芯片分析、Northern Blot、Dot Blot、PolyA筛选、体外翻译、RNase保护分析和分子克隆等多种下游实验。

## 产品特点

**简便快捷：**自动化提取可在较短时间内轻松获得纯度较高的RNA。

**安全无毒：**无需酚/氯仿等有毒试剂。

**纯 度 高：**获得的RNA纯度高，可直接用于芯片检测、高通量测序等实验。

## 注意事项 请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项。

1. 经常更换新手套。因为皮肤经常带有细菌，可能导致RNase污染。
2. 使用无RNase的塑料制品和枪头避免交叉污染。
3. 注意样品最佳储存及前处理条件，避免导致提取的RNA降解。

## 用户自备试剂和仪器

异丙醇、无水乙醇、匀浆设备（研钵、电动匀浆器等）、磁力架

## 不同类型样本推荐用量

注意：组织量不要超过100 mg，请参考下表中推荐范围，否则可能导致RNA得率和质量下降。

样本类型		最适提取量
组织	脾脏	5 mg (约0.5个小米大小)
	肝脏	10 mg (约1-1.5个小米大小)
	肾脏	15 mg (约1.5-2个小米大小)
	肠	15 mg (约1.5-2个小米大小)
	腺体	15 mg (约1.5-2个小米大小)
	心脏	25 mg (约1个绿豆大小)
	肺	25 mg (约1个绿豆大小)
	脑	25 mg (约1个绿豆大小)
	脂肪	50 mg (约1个黄豆大小)
	皮肤	100 mg (约2个黄豆大小)
细胞	肌肉	100 mg (约2个黄豆大小)
	尾	大鼠0.3 cm, 小鼠0.6 cm
细胞	不暂停方案	$10^5\text{-}10^7$ 细胞
	得率较低, 推荐暂停方案	小于 $10^5$ 细胞
昆虫类	软体类	25 mg (约1个绿豆大小)
	甲壳类	50 mg (约1个黄豆大小)
真菌	酵母	不超过 $5\times10^7$
	霉菌	25 mg (约1个绿豆大小)
	蘑菇类	75 mg (约1.5个黄豆大小)

## DNase I使用溶液的配制

将DNase I干粉（1500 U）溶解在1 ml RNase-Free ddH<sub>2</sub>O中，轻柔混匀，按照操作步骤每样本中加入10  $\mu$ l，即溶即用。

注意：DNase I干粉溶解后如需长期存储，需配制DNase I储存液，请将DNase I干粉（1500 U）溶解在550  $\mu$ l RNase-Free ddH<sub>2</sub>O中，轻柔混匀，分装后于-30~ -15°C贮存（可保存9个月），使用时每个样本中加入5  $\mu$ l配制DNase I储存液即可。-30~ -15°C冰箱取出融化的DNase I的储存液可置于2~8°C储存（可保存6周），请勿再次冻存。

## 操作步骤

### A、手工操作步骤

使用前请先在漂洗液RW中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶上标签。

#### 一、样本前处理

##### 1、组织样本

###### 1) 样本前处理

- a. 液氮研磨：取5-100 mg组织在液氮中迅速研磨成粉末，再加入100  $\mu$ l RNastore样本保存液、600  $\mu$ l缓冲液TSA和20  $\mu$ l蛋白酶K，立即涡旋混匀，室温静置5 min。
  - b. 均质仪处理：取5-100 mg组织，加入100  $\mu$ l RNastore样本保存液和研磨珠（客户自备，TIANGEN，目录号：OSE-TH-B03），使用TGrinder H24R组织研磨低温均质仪（客户自备，TIANGEN，目录号：OSE-TH-02）均质处理（温度-10°C，6.5 M/S的速度振荡30 sec，1个循环），加入600  $\mu$ l缓冲液TSA和20  $\mu$ l蛋白酶K，立即涡旋剧烈震荡混匀，室温静置5 min。
- 2) 12,000 rpm (~13,400×g) 离心5 min，小心吸取600  $\mu$ l上清进行后续实验。
- 3) 缓慢加入200  $\mu$ l结合增强剂ICBP，充分混匀，加入20  $\mu$ l磁珠悬浮液BE (100 mg/ml)。

注意1：磁珠悬浮液BE (100 mg/ml) 使用前请充分涡旋混匀。

注意2：如果是微量样本，可以增加结合增强剂用量到300  $\mu$ l。

注意3：(补充方案) 保存在Trizol中的组织样本，均质处理后，8,000 rpm (~7,104×g) 离心2 min，涡旋混匀后取600  $\mu$ l上清。加入250  $\mu$ l异丙醇和20  $\mu$ l磁珠悬浮液BE (100 mg/ml)，充分混匀，继续后续流程。

##### 2、细胞样本

###### 1) 样本收集

- a. 悬浮细胞的收集：估计细胞数量（收集细胞数量请不要超过 $1\times 10^7$ ），300×g离心5 min，将细胞收集到离心管中，仔细吸除所有培养基上清。
- b. 贴壁细胞的收集（胰蛋白酶处理法）：估计细胞数量（收集细胞数量请不要超过 $1\times 10^7$ ），吸除培养基，用PBS溶液洗涤细胞，吸除PBS溶液，向细胞中加入含有0.10-0.25%胰蛋白酶的PBS溶液处理细胞，当细胞脱离容器壁时，加入含有血清的培养基失活胰蛋白酶，将细胞溶液转移至RNase-Free的离心管中，300×g离心5 min，收集细胞沉淀，仔细吸除所有上清。

**注意1：**收集细胞时一定要将细胞培养液去除干净，否则会导致裂解不完全，影响RNA与磁珠的结合，造成RNA的产量降低。

**注意2：**从新鲜全血中分离出来的白细胞也可以参照细胞提取方案，白细胞的保存可参考RNASTORE样本保存液说明书（客户自备，TIANGEN，目录号：DP408）流程。

- 2) 向沉淀的细胞中加入100  $\mu$ l RNASTORE样本保存液、600  $\mu$ l缓冲液TSA和20  $\mu$ l蛋白酶K，立即涡旋混匀，室温静置5 min，小心吸取600  $\mu$ l上清进行后续实验。
- 3) 缓慢加入200  $\mu$ l结合增强剂ICBP（细胞数少于 $10^5$ 的话，可以加入300  $\mu$ l结合增强剂ICBP），充分混匀，加入20  $\mu$ l磁珠悬浮液BE（100 mg/ml）。

**注意：**（补充方案）保存在Trizol中的细胞样本，均质处理后，涡旋混匀后取600  $\mu$ l上清。加入250  $\mu$ l异丙醇和20  $\mu$ l磁珠悬浮液BE（100 mg/ml），充分混匀，继续后续流程。

### 3. 血液样本

#### 1) 新鲜血液直接裂解快速方案

- a. 取150  $\mu$ l新鲜抗凝血液，加入450  $\mu$ l缓冲液TSA和20  $\mu$ l蛋白酶K，立即涡旋混匀，室温静置5 min，小心吸取600  $\mu$ l上清进行后续实验。
- b. 缓慢加入300  $\mu$ l结合增强剂ICBP，充分混匀，加入20  $\mu$ l磁珠悬浮液BE（100 mg/ml）。

#### 2) 新鲜血液前处理方案

- a. 取不超过1 ml新鲜抗凝血液按1:5的比例加入RNALock血液RNA稳定剂（客户自备，TIANGEN，目录号：DP440-02），如取300  $\mu$ l新鲜抗凝全血加入1.5 ml RNALock血液RNA稳定剂。

**注意：**使用前请确定RNALock血液RNA稳定剂储存于室温。

- b. 立即盖上管盖，上下颠倒混匀8-10次。

**注意：**如需存放请参考RNALock血液RNA稳定剂（客户自备，TIANGEN，目录号：DP440-02）说明书的储存条件。

- c. 然后6,500 rpm (~4,000×g) 离心10 min，用移液器吸弃上清液，取沉淀进行以下操作。

**注意：**如果离心后有明显团块或者裂解不充分的现象，可重复步骤a至c处理一次。

- d. 向沉淀中加入1 ml无酶水（客户自备），用移液器吹打使沉淀完全溶解。
- e. 然后6,500 rpm (~4,000×g) 离心10 min，用移液器吸弃上清液。
- f. 缓慢加入150  $\mu$ l悬浮液RSB（客户自备，TIANGEN，为RNALock血液RNA稳定剂的组分），用移液器反复吹打使沉淀溶解完全。
- g. 加入450  $\mu$ l缓冲液TSA和20  $\mu$ l蛋白酶K，立即涡旋混匀，室温静置5 min，小心吸取600  $\mu$ l上清进行后续实验。
- h. 缓慢加入300  $\mu$ l结合增强剂ICBP，充分混匀，加入20  $\mu$ l磁珠悬浮液BE（100 mg/ml）。

#### 3) RNALock或者PAXgene RNA采血管保存血液

- a. 先将样品放置于室温或37°C水浴使其升至室温。取RNALock或者PAXgene RNA采血管保存的血液（换算到原始血液体积不超过1 ml），6,500 rpm (~4,000×g) 离心10 min，用移液器吸弃上清液，取沉淀进行以下操作。
  - b. 向沉淀中加入1 ml无酶水（客户自备），用移液器吹打使沉淀完全溶解。
  - c. 然后6,500 rpm (~4,000×g) 离心10 min，用移液器吸弃上清液。
  - d. 缓慢加入150 μl悬浮液RSB（客户自备，TIANGEN，为RNALock血液RNA稳定剂的组分），用移液器反复吹打使沉淀溶解完全。
- 注意：若提取的为PAXgene RNA采血管保存血液可使用150 μl缓冲液PBS（客户自备）代替150 μl悬浮液RSB。**
- e. 加入450 μl缓冲液TSA和20 μl蛋白酶K，立即涡旋混匀，室温静置5 min，小心吸取600 μl上清进行后续实验。
  - f. 缓慢加入300 μl结合增强剂ICBP，充分混匀，加入20 μl磁珠悬浮液BE（100 mg/ml）。

#### 4、细菌、真菌、环境、食品深加工类样本

##### 1) 样本前处理

- a. 细菌培养物（适用于革兰氏阴性及阳性菌）

取细菌培养物，在温度4°C下（后续离心步骤均在室温进行）6,500 rpm (~4,000×g) 离心2 min收集菌体沉淀（收集菌体的细胞数量最大量不超过 $1\times10^9$ ），仔细去除所有培养基上清。

**注意：如果培养基上清去除不完全，将对第二步中的细胞壁消化过程产生抑制。**

##### b. 环境样本

淤泥、沉积物类样本：取50-100 mg淤泥、沉积物类样本加入到离心管中。

水体样本：取一定体积水体用滤膜过滤后，将滤膜类样本剪碎，放入离心管中（也可依据样本情况进行高速离心后，取50-100 mg沉淀加入到离心管中进行下一步实验）。

##### c. 食品深加工类样本

酸奶类样本：取1-2 ml样本，4°C，6,500 rpm (~4,000×g) 离心2 min收集沉淀。

酱油类样本：取10-50 ml样本，4°C，6,500 rpm (~4,000×g) 离心2 min收集沉淀。

酒曲发酵类样本：取发酵中间体1-5 ml样本，4°C，6,500 rpm (~4,000×g) 离心2 min收集沉淀。固体样本可以取约100-200 mg样本进行提取。

**注意1：由于深加工类样本在不同加工阶段微生物含量差异较大，可以根据实际样本情况取合适样本体积进行实验。**

**注意2：对于杂质较多的样本可以进行一遍清洗，离心收集沉淀后，加入1 ml无酶水（客户自备）进行重悬，6,500 rpm (~4,000×g) 离心2 min收集沉淀，继续后续实验。**

##### d. 酵母

取酵母细胞1-2 ml（最多不超过 $5\times10^7$  cells），12,000 rpm (~13,400×g) 离心1 min，尽量吸除上清（菌液较多时可以通过几次离心将菌体沉淀收集到一个离心管中）。

#### e. 霉菌

在液体培养基中培养的菌体，12,000 rpm (~13,400×g) 离心1 min收集，取30-50 mg样本进行下一步实验。

使用固体培养基培养的菌体，从表面刮取菌丝，取30-50 mg样本进行下一步实验。

**注意：霉菌类样本也可以液氮研磨，省去第2）和第3）步的酶消化步骤，直接进行第4）加裂解液进行后续步骤。**

- 2) 用400  $\mu\text{l}$ 复合酶缓冲液LY（客户自备，TIANGEN，目录号：RT401-11）彻底重悬菌体，加入50  $\mu\text{l}$ 溶菌酶A（客户自备，50 mg/ml，TIANGEN，目录号：RT401-11）和2  $\mu\text{l}$ 溶壁酶A（客户自备，10 U/ $\mu\text{l}$ ，TIANGEN，目录号：RT410-12），37°C孵育15 min。

**注意：如果只关注细菌，可以只加入溶菌酶A进行酶消化处理；**

**如果只关注真菌，可以只加入溶壁酶A进行酶消化处理。**

- 3) 6,500 rpm (~4,000×g) 离心2 min，弃上清。

- 4) 加入650  $\mu\text{l}$ 缓冲液TSA和20  $\mu\text{l}$ 蛋白酶K，悬浮沉淀后转移到均质研磨管（客户自备，TIANGEN，目录号：OSE-TH-B06）中，1,200 rpm振荡混匀15 min。也可以使用TGrinder H24R组织研磨低温均质仪（客户自备，TIANGEN，目录号：OSE-TH-02）混匀（温度-10°C，6 M/S的速度振荡30 sec，1个循环）。

- 5) 均质完成后，12,000 rpm (~13,400×g) 离心2 min，小心吸取600  $\mu\text{l}$ 上清进行后续实验。

- 6) 缓慢加入300  $\mu\text{l}$ 结合增强剂ICBP，充分混匀，加入20  $\mu\text{l}$ 磁珠悬浮液BE（100 mg/ml）。

#### 5、粪便样本

- 1) 称取50-100 mg粪便样本，用400  $\mu\text{l}$ 复合酶缓冲液LY（客户自备，TIANGEN，目录号：RT401-11）彻底重悬样本，尽量分散开无明显团块，加入50  $\mu\text{l}$ 溶菌酶A（客户自备，50 mg/ml，TIANGEN，目录号：RT401-11）和2  $\mu\text{l}$ 溶壁酶A（客户自备，10 U/ $\mu\text{l}$ ，TIANGEN，目录号：RT410-12），37°C孵育15 min。

**注意：如果只关注细菌，可以只加入溶菌酶A进行酶消化处理；**

**如果只关注真菌，可以只加入溶壁酶A进行酶消化处理；**

**对于杂质较多的样本可以进行一遍清洗，加入1 ml无酶水（客户自备）进行重悬，6,500 rpm (~4,000×g) 离心2 min收集沉淀，然后进行酶消化实验。**

- 2) 6,500 rpm (~4,000×g) 离心2 min，弃上清。

- 3) 加入650  $\mu\text{l}$ 缓冲液TSA和20  $\mu\text{l}$ 蛋白酶K，悬浮沉淀后转移到均质管（客户自备，TIANGEN，目录号：OSE-TH-B06）中，1,200 rpm振荡混匀15 min。也可以使用TGrinder H24R组织研磨低温均质仪（客户自备，TIANGEN，目录号：OSE-TH-02）混匀（温度-10°C，6 M/S的速度振荡30 sec，1个循环）。

- 4) 均质完成后，12,000 rpm (~13,400×g) 离心2 min，小心吸取600  $\mu\text{l}$ 上清进行后续实验。

- 5) 缓慢加入300  $\mu\text{l}$ 结合增强剂ICBP，充分混匀，加入20  $\mu\text{l}$ 磁珠悬浮液BE（100 mg/ml）。

## 二、磁珠纯化和洗脱步骤：

1. 按照以上流程进行相应样本前处理和酶消化等流程。
2. 加入磁珠后震荡混匀5 min，将离心管放置于磁力架上静置1 min，待磁珠完全吸附时小心去除液体。
3. 加入900  $\mu$ l缓冲液RW1A，振荡混匀3 min，放置于磁力架上静置吸附1 min，去上清。
4. 加入700  $\mu$ l缓冲液RDC溶液和10  $\mu$ l DNase I使用溶液，轻柔混匀，室温放置15 min，放置于磁力架上静置吸附1 min，去上清。
5. 加入900  $\mu$ l缓冲液RW1A，振荡混匀3 min，放置于磁力架上静置吸附1 min，去上清。
6. 加入800  $\mu$ l漂洗液RW4，振荡混匀3 min，放置于磁力架上静置吸附1 min，去上清。
7. 加入700  $\mu$ l漂洗液RW（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），振荡混匀3 min，放置于磁力架上静置吸附1 min，去上清。
8. 室温晾干5 min。
9. 加入50-100  $\mu$ l RNase-Free ddH<sub>2</sub>O，轻轻混匀，室温放置5 min（45°C加热洗脱可以提高得率），放置于磁力架上静置吸附2 min，将上清转移到新的离心管中。

注意：乙醇残留会抑制后续的酶反应，所以晾干时要确保乙醇挥发干净。但也不要干燥太长时间，以免难以洗脱RNA。RNA样品请在-90~-65°C中保存。

## B、TGuide S96核酸提取仪自动化流程

使用前请先在漂洗液RW中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶上标签。

## 一、样本前处理

参照手工步骤前处理流程。

## 二、按照下面板位进行溶液的分装

板位分布	E	F	G	H
试剂组成	Buffer RW1A 900 $\mu$ l	DNase I 10 $\mu$ l Buffer RDC 700 $\mu$ l	Buffer RW 700 $\mu$ l MagAttract Suspension BE 20 $\mu$ l 磁棒套	
板位分布	A	B	C	D
试剂组成	样本上清600 $\mu$ l Buffer ICBP 200-300 $\mu$ l	Buffer RW1A 900 $\mu$ l	Buffer RW4 800 $\mu$ l	RNase-Free ddH <sub>2</sub> O 100 $\mu$ l

注意1：为避免影响DNase I的活性，DNase I和缓冲液RDC现用现分。

注意2：如果是微量细胞样本，可以增加结合增强剂ICBP用量到300 μl。

注意3：（补充方案）保存在Trizol中的组织样本，均质处理后，8,000 rpm (~7,104×g) 离心2 min，涡旋混匀后取600 μl上清，在A板位加入上清液和250 μl异丙醇代替结合增强剂ICBP，继续后续流程。

注意4：（补充方案）保存在Trizol中的细胞样本，均质处理后，涡旋混匀后取600 μl上清。在A板位加入上清液和250 μl异丙醇代替结合增强剂ICBP，继续后续流程。

### 三、TGuide S96核酸提取仪自动化流程

1. 将磁棒套放在磁珠悬浮液BE的深孔板中，运行TGuide S96全自动核酸提取纯化仪提取实验程序。

实验程序如下表所示：

步骤	板位设置	混合体积(μl)	混合速度	混合时间(min)	沉淀时间(sec)	磁吸次数	磁吸速度(mm/s)	加热板位	加热温度(°C)	悬停时间(min)	自动暂停	抓手动作
Tip	G	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	抓取
Collect Beads	G	800	中慢	0.5	10	1	0.8	—	—	—	—	—
Mixing	E	900	中慢	0.5	—	—	—	—	—	—	—	—
Mixing	A	800	中慢	2	—	—	—	—	—	—	—	—
Collect Beads	E	900	中慢	0.2	10	1	0.8	—	—	—	—	—
Binding	A	800	中慢	5	10	2	0.8	—	—	—	—	—
Wash-I	E	900	中速	5	10	1	1	—	—	—	—	—
DNasel	F	710	中速	12	10	1	0.8	—	—	—	—	—
Wash-II	B	900	中速	5	10	1	1	—	—	—	—	—
Wash-III	C	800	中速	4	10	1	1	—	—	—	—	—
Wash-IV	G	720	中速	4	10	2	1	—	—	5	—	—
Elution	D	100	中慢	6	10	3	0.8	—	—	—	—	—
Finish	C	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	释放

2. TGuide S96全自动核酸提取纯化仪提取实验程序结束后，将D板位96深孔板中的RNA吸出，并于-90~ -65°C中保存。

## C、TGuide S16核酸提取仪自动化流程

使用前请先在漂洗液RW中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶上标签。

### 一、样本前处理

参照手工步骤前处理流程。

### 二、按照下面板位进行溶液的分装

列1/7	列2/8	列3/9	列4/10	列5/11	列6/12
样本上清 Buffer ICBP 200-300 $\mu$ l	Buffer RW1A 600 $\mu$ l	DNase I Buffer RDC 10 $\mu$ l 700 $\mu$ l	Buffer RW4 800 $\mu$ l	RNase-Free ddH <sub>2</sub> O 100 $\mu$ l	Buffer RW MagAttract Suspension BE 20 $\mu$ l 700 $\mu$ l

注意1：为避免影响DNase I的活性，DNase I在运行前加入到第3/9列中，现用现加。

注意2：如果是微量细胞样本，可以增加结合增强剂ICBP用量到300  $\mu$ l。

注意3：（补充方案）保存在Trizol中的组织样本，均质处理后，8,000 rpm (~7,104×g) 离心2 min，涡旋混匀后取600  $\mu$ l上清，在1/7列加入上清液和250  $\mu$ l异丙醇代替结合增强剂ICBP，继续后续流程。

注意4：（补充方案）保存在Trizol中的细胞样本，均质处理后，涡旋混匀后取600  $\mu$ l上清。在1/7列加入上清液和250  $\mu$ l异丙醇代替结合增强剂ICBP，继续后续流程。

### 三、TGuide S16核酸提取仪自动化流程

1. 将磁棒套插入磁棒套架卡槽内并确保卡扣到位，运行TGuide S16全自动核酸提取纯化仪提取实验程序。

实验程序如下表所示：

步骤	槽位	名称	混合时间(min)	混合速度	晾干时间(min)	体积(μl)	温度(°C)	磁吸段数	每段磁吸时间(sec)	液面吸磁时间(sec)	循环次数	磁吸速度(mm/s)
1	6	移磁珠	0.5	7	0	720	--	5	5	3	2	2
2	2	存磁珠	0.5	7	0	900	--	1	0	0	0	--
3	1	裂解	2	8	0	800	--	1	0	0	0	--
4	2	移磁珠	0.5	7	0	900	--	5	5	3	2	2
5	1	结合	5	8	0	800	--	5	5	3	2	2
6	2	漂洗1	3	7	0	900	--	5	5	0	2	2
7	3	DNase I	12	3	0	710	--	1	5	0	2	2
8	2	漂洗2	5	7	0	900	--	5	5	3	2	2
9	4	漂洗3	3	7	0	800	--	5	5	0	2	2
10	6	漂洗4	3	7	6	720	--	5	5	0	2	2
11	5	洗脱	5	7	0	100	45	5	5	5	2	2
12	6	弃磁珠	0.5	5	0	720	--	1	0	0	0	--

2. 自动化提取程序结束后，将96深孔板第5/11孔中的RNA吸出，并于-90~ -65°C中保存。

## RNA纯度及浓度检测

**完整性：**RNA可用普通琼脂糖凝胶电泳（电泳条件：胶浓度1.2%；0.5×TBE电泳缓冲液；150 V，15 min）检测完整性。由于细胞中70-80%的RNA为rRNA，电泳后UV下应能看到非常明显的rRNA条带。rRNA大小分别约为5 kb和2 kb，分别相当于28S和18S rRNA。出现弥散片状或条带消失表明样品严重降解。

**纯度：**OD<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub>比值是衡量蛋白质污染程度的指标。高质量的RNA，OD<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub>读数在1.8-2.1之间，比值为2.0是高质量RNA的标志。OD<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub>读数受测定所用溶液的pH值影响。同一个RNA样品，假定在10 mM Tris，pH7.5溶液中测出的OD<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub>读数1.8-2.1之间，在水溶液中所测读数则可能在1.5-1.9之间，但这并不表示RNA不纯。

**浓度：**取一定量的RNA提取物，用RNase-Free ddH<sub>2</sub>O稀释n倍，用RNase-Free ddH<sub>2</sub>O将分光光度计调零，取稀释液进行OD<sub>260</sub>，OD<sub>280</sub>测定，按照以下公式进行RNA浓度的计算：

$$\text{终浓度 (ng/μl)} = (\text{OD}_{260}) \times (\text{稀释倍数} n) \times 40$$



TIANGEN官方微信，专业服务助力科研：

- 可视化操作指南
- 技术公开课合辑
- 全线产品查询
- 在线专家客服
- 微信直播课堂
- 最新优惠活动

# 浓缩国际权威精华， 铸就 TIANGEN 优秀品质！

TIANGEN 为您提供国际化标准的生物学产品和服务

- PCR、RT-PCR 系列
- 核酸 DNA、RNA 分离纯化系列
- DNA 分子量标准
- 克隆载体、感受态细胞
- 细胞生物学产品
- 蛋白分子量标准
- 蛋白质染色、检测及定量相关产品