



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



Order: 010-59822688
 Toll-free: 800-990-6057 /400-810-6057
 TIANGEN BIOTECH (BEIJING) CO., LTD

版本号: DP190408

TGuide S96 Blood/Cell/Tissue RNA Kit

TGuide S96磁珠法

血液/细胞/组织总RNA提取试剂盒

目录号: DP861

产品内容

产品组成	DP861 (96 preps)
裂解液RL (Buffer RL)	60 ml
缓冲液IC (Buffer IC)	1板 (96×400 μl/孔)
去蛋白液RDP (Buffer RDP)	1板 (96×900 μl/孔)
漂洗液RWP (Buffer RWP)	1板 (96×700 μl/孔)
磁珠悬浮液WSP (MagAttract Suspension WSP)	1板 (96×740 μl/孔)
无RNA酶双蒸水(RNase-Free ddH ₂ O)	1板 (96×100 μl/孔)
去蛋白液RD (Buffer RD)	48 ml
蛋白酶 K (Proteinase K)	2 × 1 ml
无RNA酶DNA酶 I (RNase-Free DNase I)	1 支
RDD缓冲液 (Buffer RDD)	4 ml
无RNA酶双蒸水 (RNase-Free ddH ₂ O)	1 ml
KF96深孔板 (KF Deep Well 96 Plate)	1 块
KF96磁棒套 (KF 96-Tip Comb)	1 个

储存条件

本试剂盒置于室温(15-25℃)干燥条件下, 可保存12个月, 更长时间的保存可置于2-8℃。RNase-Free DNase I, RDD缓冲液和RNase-Free ddH₂O(管装)置于2-8℃保存。

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，从各种组织、细胞、血液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TGuide S96全自动核酸提取纯化仪完美契合，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，没有基因组、蛋白和其它杂质的污染。

使用本试剂盒纯化的RNA适用于RT-PCR、RT-qPCR、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**：样本前处理后直接自动化提取可在较短时间内轻松获得纯度较高的RNA。
- **高通量**：可完美契合TIANGEN的TGuide S96全自动核酸提取纯化仪进行高通量提取实验。
- **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. 本产品适用于TGuide S96全自动核酸提取纯化仪。
2. 注意样品最佳储存及前处理条件，避免导致提取的RNA降解。
3. 在新鲜血液样本前处理时需客户自备10×红细胞裂解液H(TIANGEN, RT125)以及过滤柱CS(TIANGENG, RK176)。
4. DNase I 储存液的配制：将DNase I 干粉（1500 Kunitz单位）溶解在550 μ l RNase-Free ddH₂O中，轻柔混匀，分装后-20℃贮存（可保存9个月），每次按照实验需求取出。请注意将融化的DNase I 的储存液置于4℃储存（可保存6周），请勿再次冻存。DNase I 工作液的配制：每个反应取5 μ l DNase I 储存液，加入70 μ l Buffer RDD，轻柔混匀。

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 (min)	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
Capture Tip Comb	G	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	抓取
Collect Beads	G	740	中速	0.5	2	1	1	—	—	—	—	—
Binding	A	900	中慢	10	2	1	1	—	—	—	—	—
Wash-I	B	900	中慢	3	2	1	1	—	—	5	是	—
DNase I	F	75	中速	15	2	1	—	—	—	—	是	—
Wash-II	F	775	中速	3	2	1	1	—	—	—	—	—
Wash-III	G	740	中速	3	2	1	1	—	—	—	—	—
Wash-IV	C	700	中速	3	2	1	1	—	—	5	—	—
Elution	D	100	中速	8	4	2	1	D	60	—	—	—
Finish	G	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	释放

3. 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-80°C保存。

操作步骤

第一次使用前请在去蛋白液RD中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶上的标签。

一、样本前处理

A. 组织样本

1. 组织样本匀浆

注意：组织量不要超过20 mg，否则可能导致RNA得率和质量下降。对于富含DNA的样本，如脾脏，建议使用5 mg。

取新鲜或-80°C冻存的组织，液氮充分研磨成粉末状，称取5-20 mg至装有450 μl裂解液RL和20 μl Proteinase K的1.5 ml离心管中(或取适量组织加入裂解液后，电动匀浆)，立即涡旋混匀，室温静置5 min，12000 rpm 离心5 min，小心吸取上清。

2. 取不超过500 μl上述组织上清液加入到Buffer IC的深孔板中。

B. 细胞样本

1. 不同细胞样本的处理方法：

(1) 悬浮细胞：估计收集细胞数量(收集细胞数量请不要超过 1×10^7)，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。

(2) 贴壁细胞：确定细胞数量，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：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。

2. 向收集的细胞沉淀中加入适量的裂解液RL和20 μl Proteinase K，立即涡旋混匀，室温静置5 min。

裂解液RL具体用量请参考下表

沉淀细胞数量	裂解液RL (μl)
$<5 \times 10^6$	450
$5 \times 10^6 - 1 \times 10^7$	600

3. 取不超过500 μl上述样本处理液加入到Buffer IC的深孔板中。

C. 新鲜血液样本

注意：本试剂盒仅适用于提取新鲜血液总RNA，不适用于冻存血。

1. 红细胞裂解液的稀释：根据处理血液样品的体积选取适当体积的10×红细胞裂解液H(客户自备: TIANGEN, RT125), (例如待处理的血液样品体积为200 μl, 则取140 μl 10×红细胞裂解液H), 用RNase-Free ddH₂O稀释至1×红细胞裂解液H。

2. 向1倍体积新鲜全血中加5倍体积1×红细胞裂解液H (需自备合适的干净管子)。

注意：a. 为获得最佳的混匀效果，血液和1×红细胞裂解液H的混合液体积不应超过管子体积的3/4。如果血液中的白细胞含量较高，可按比例减小血液的使用体积，第7步中的裂解液RL的使用体积也要进行相应调整。b. 此处新鲜全血仅指哺乳动物；禽类血由于红细胞含核酸，因此不需要进行此步骤，可以根据需求确定血液起始量直接进行全血裂解 (即步骤7)。

3. 在冰上孵育10-15 min, 在孵育过程中涡旋振荡混匀2次。

注意：在孵育的过程中溶液将变成半透明状态，表明红细胞裂解。如果必要的话，孵育时间可延长至20 min。

4. 4°C条件下2,100 rpm (~400×g)离心10 min, 将上清完全去除。

注意：离心后白细胞可能会形成小球，确保完全去除上清。痕量红细胞的存在，会使白细胞小球呈现红色，而该现象会在随后的漂洗步骤中消失。

5. 向白细胞沉淀中加入1×红细胞裂解液H (加入1×红细胞裂解液H的体积是第1步中全血用量的2倍)，重悬细胞。

6. 4°C, 2,100 rpm (~400×g) 离心10 min, 将上清完全去除。

7. 向白细胞沉淀中加入裂解液RL和20 μl Proteinase K, 裂解液RL用量按照下表进行，涡旋或使用移液器混匀。

注意：如果血液不是健康人的全血，需要根据血液中白细胞的数量来确定所需裂解液RL的体积，此时细胞应完全裂解，块状细胞沉淀消失。

裂解液RL(μl)	健康人类全血(ml)	白细胞数量
400	多至0.5	多至2×10 ⁶
600	0.5-1.5	2×10 ⁶ 至1×10 ⁷

8. (可选)将溶液转移至过滤柱CS中(过滤柱CS放在收集管中), 12,000 rpm (~13,400×g) 离心2 min, 弃去过滤柱CS (TIANGEN, RK176), 收集滤液。

注意：如果存在凝血点或片，建议进行此步骤，否则会影响后续核酸与磁珠的结合以及纯化。

9. 取不超过500 μl上述裂解液加入到Buffer IC的深孔板中。

二、TGuide S96 全自动核酸提取纯化仪操作步骤

A. 提取试剂准备

从试剂盒中取出真空包装预封装96深孔板，颠倒混匀数次使磁珠重悬，去掉真空包装，轻甩96深孔板使试剂及磁珠均集中到96深孔板底部 (也可使用孔板离心机, 500 rpm 离心1 min), 使用前小心撕去铝箔封口膜，避免96深孔板振动，防止液体溅出。

B. 试剂和板位分布

板位	E	F	G	H
试剂	空	DNase I工作液* 75 μl	WSP 740 μl Tip Comb	空
板位	A	B	C	D
试剂	IC 400 μl Sample^ 500 μl	RDP 900 μl	RWP 700 μl	RNase-Free ddH ₂ O 100 μl

注意：★在去蛋白液RDP漂洗之后，仪器设置暂停步骤，磁珠晾干5 min。同时在空96孔板中每孔加入75 μl DNase I 工作液(5 μl DNase I 储存液+70 μl RDD 缓冲液)，将此板置于F板位，继续拍打混匀15 min。再次设置暂停步骤向F板DNase I 工作液中补加700 μl 去蛋白液RD (请先检查是否已加入无水乙醇)，继续运行程序。

注意：▲上机前需向Buffer IC中加入不超过500 μl 处理好的样本，并将加好样本Buffer IC的深孔板放置到A板位。

C. TGuide S96自动化运行程序

1. 在Buffer IC的96深孔板中加入经过上述处理的样本。将磁棒套放在MagAttract Suspension WSP的深孔板中。按照步骤B中板位分布上机。
2. 运行TGuide S96全自动核酸提取纯化仪相应实验程序。