

版本号: DP250521

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 ₂ O)	30 ml
RT431	RNase-Free DNase I (1500 U)	1 支
	无RNA酶双蒸水 (RNase-Free ddH ₂ O)	1 ml

备注: DP 771和RT431组分独立运输和储存。

储存条件

RNase-Free DNase I, RNase-Free ddH₂O置于2-8℃, 可保存15个月。该试剂盒其他组分置于室温 (15-30℃) 干燥条件下, 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（补充方案：保存在Trizol中的样本）、无水乙醇、匀浆设备（研钵、电动匀浆器等）、液氮、手套、口罩、RNase-Free离心管、磁力架或核酸提取仪，其他品牌机型如需整合请联系TIANGEN销售人员。

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)
	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 - 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 5×10^7
	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 ddH₂O 中, 轻柔混匀, 按照操作步骤每样本中加入10 μ 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 μ l RNase-Free ddH₂O 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 μ 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

- 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 μ l RNAstore样本保存液、600 μ l缓冲液TSA和20 μ l蛋白酶K，立即涡旋剧烈混匀，室温静置5 min。
- 均质仪处理：取5-100 mg组织，加入100 μ 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 $^{\circ}$ C，6.5 M/S的速度振荡30 sec，1个循环），加入600 μ l缓冲液TSA和20 μ l蛋白酶K，立即涡旋剧烈混匀，室温静置5 min。

注意：可以按照100 μ l RNAstore样本保存液、600 μ l缓冲液TSA和20 μ l蛋白酶K的比例进行预混，每个样本加入720 μ l，现用现混。

- 12,000 rpm (~13,400 \times g) 离心5 min，小心吸取600 μ l上清进行后续实验。
- 缓慢加入200 μ l结合增强剂ICBP，充分混匀，加入20 μ 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 μ 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 \times g) 离心2 min，涡旋混匀后取600 μ l上清。加入250 μ l异丙醇和20 μ 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

- 悬浮细胞的收集：估计细胞数量（收集细胞数量请不要超过 1×10^7 ），300 \times 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。
- 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 1×10^7 ），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 \times 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 μ l RNAstore样本保存液、600 μ l缓冲液TSA和20 μ l蛋白酶K，立即涡旋混匀，室温静置5 min，小心吸取600 μ l上清进行后续实验。
- 3) 缓慢加入200 μ l结合增强剂ICBP（细胞数少于 10^5 的话，可以加入300 μ l结合增强剂ICBP），充分混匀，加入20 μ 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 μ l上清。加入250 μ l异丙醇和20 μ 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 μ l新鲜抗凝血液，加入450 μ l缓冲液TSA和20 μ l蛋白酶K，立即涡旋混匀，室温静置5 min，小心吸取600 μ l上清进行后续实验。
- b. 缓慢加入300 μ l结合增强剂ICBP，充分混匀，加入20 μ 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 μ 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（ $\sim 4,000\times g$ ）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（ $\sim 4,000\times g$ ）离心10 min，用移液器吸弃上清液。
- f. 缓慢加入150 μ 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 μ l缓冲液TSA和20 μ l蛋白酶K，立即涡旋混匀，室温静置5 min，小心吸取600 μ l上清进行后续实验。
- h. 缓慢加入300 μ l结合增强剂ICBP，充分混匀，加入20 μ 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（ $\sim 4,000\times g$ ）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，12,000 rpm (~13,400×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 1×10^9 ），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 5×10^7 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2 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 μ 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 μ l溶菌酶A (客户自备, 50 mg/ml, TIANGEN, 目录号: RT401-11) 和2 μ l溶壁酶A (客户自备, 10 U/ μ l, TIANGEN, 目录号: RT410-12), 37 $^{\circ}$ 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 \times g) 离心2 min, 弃上清。
 - 4) 加入650 μ l缓冲液TSA和20 μ 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 $^{\circ}$ 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 \times g) 离心2 min, 小心吸取600 μ l上清进行后续实验。
 - 6) 缓慢加入300 μ l结合增强剂ICBP, 充分混匀, 加入20 μ 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 μ 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 μ l溶菌酶A (客户自备, 50 mg/ml, TIANGEN, 目录号: RT401-11) 和2 μ l溶壁酶A (客户自备, 10 U/ μ l, TIANGEN, 目录号: RT410-12), 37 $^{\circ}$ 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 \times g) 离心2 min收集沉淀, 然后进行酶消化实验。

- 2) 6,500 rpm (~4,000 \times g) 离心2 min, 弃上清。
- 3) 加入650 μ l缓冲液TSA和20 μ 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 $^{\circ}$ 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 \times g) 离心2 min, 小心吸取600 μ l上清进行后续实验。
- 5) 缓慢加入300 μ l结合增强剂ICBP, 充分混匀, 加入20 μ 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. 加入磁珠后振荡混匀5 min, 将离心管放置于磁力架上静置吸附30 sec-1 min, 待磁珠完全吸附时小心去除液体。
3. 加入900 μ l缓冲液RW1A, 振荡混匀1-3 min, 放置于磁力架上静置吸附30 sec-1 min, 去上清。
4. 加入700 μ l缓冲液RDC溶液和10 μ 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30 sec-1 min，去上清。

- 加入700 μ l缓冲液RW1A，振荡混匀1-3 min，放置于磁力架上静置吸附30 sec-1 min，去上清。
- 加入700 μ l漂洗液RW4，振荡混匀1-3 min，放置于磁力架上静置吸附30 sec-1 min，去上清。
- 加入700 μ 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1-3 min，放置于磁力架上静置吸附30 sec-1 min，去上清。
- 室温晾干3-5 min。

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。

- 加入50-100 μ l RNase-Free ddH₂O，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：RNA样品请在-90~-65°C中保存。



DP771磁珠法高效组织/细胞总RNA提取试剂盒手工操作图文指南

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

- 结合增强剂ICBP和磁珠悬浮液BE按照步骤二进行分装。
- 针对不同样本的前处理方式，参照手工步骤，至“小心吸取600 μ l上清进行后续实验”结束。

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 μ l	DNase I 10 μ l Buffer RDC 700 μ l	Buffer RW 700 μ l MagAttract Suspension BE 20 μ l 磁棒套	
板位分布	A	B	C	D
试剂组成	样本上清600 μ l Buffer ICBP 200-300 μ l	Buffer RW1A 900 μ l	Buffer RW4 800 μ l	RNase-Free ddH ₂ O 100 μ 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 \times 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 ($^{\circ}\text{C}$)	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	—	—	—	—	—
DNaseI	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	—	45	—	—	—
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 $^{\circ}\text{C}$ 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

1. 结合增强剂ICBP和磁珠悬浮液BE按照步骤二进行分装。
2. 针对不同样本的前处理方式，参照手工步骤，至“小心吸取600 μ l上清进行后续实验”结束。

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 μ l	Buffer RW1A 900 μ l	DNase I Buffer RDC 700 μ l	Buffer RW4 800 μ l	RNase-Free ddH ₂ O 100 μ l	Buffer RW MagAttract Suspension BE 20 μ l 700 μ 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 μ 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 \times g) 离心2 min，涡旋混匀后取600 μ l上清，在1/7列加入上清液和250 μ 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 μ l上清。在1/7列加入上清液和250 μ 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。

RNA完整性也可通过毛细管电泳技术（如安捷伦2100 Bioanalyzer或4200 TapeStation系统）进行量化评估，其核心指标为RNA完整性数（RNA Integrity Number, RIN）。对于常规样本，RIN值范围为1-10，数值越高代表RNA降解程度越低；对于特殊样本，如福尔马林固定石蜡包埋（FFPE）样本因固定过程可能导致RNA严重降解，此时RIN值可能无法准确反映降解程度。建议结合DV200指标（即RNA片段中>200 nt的比例）进行综合评估。

纯度：OD₂₆₀/OD₂₈₀比值是衡量蛋白质污染程度的指标。高质量的RNA，OD₂₆₀/OD₂₈₀读数在1.8-2.1之间，比值为2.0是高质量RNA的标志。OD₂₆₀/OD₂₈₀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OD₂₆₀/OD₂₈₀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 ddH₂O稀释n倍，用RNase-Free ddH₂O将分光光度计调零，取稀释液进行OD₂₆₀，OD₂₈₀测定，按照以下公式进行RNA浓度的计算：

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



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

坚持“CUSTOMER FIRST”理念 秉承“质量为天，服务为根”宗旨！

TIANGEN为您提供从样本处理，
核酸纯化到下游检测的整体解决方案

科研试剂

- 样本保护与处理
- 磁珠法外泌体系列
- 基因组 DNA 提取
- 质粒提取
- 总 RNA 提取
- DNA 产物纯化 / 胶回收
- PCR 系列
- NGS 文库制备
- 表观遗传学
- RT-PCR 系列
- 荧光定量 PCR 系列
- 克隆和点突变
- DNA 分子量标准
- 蛋白表达和检测

科研解决方案

- 快速分子克隆整体解决方案
- 基因表达分析快速解决方案
- 环境微生物解决方案
- 复杂样本 RNA 解决方案