

磁珠法通用型 DNA/总 RNA 快速提取试剂盒

Magbead DNA/Total RNA Extraction Kit

产品编号: YFXM0015

(本试剂盒仅供科研使用)

产品介绍

翼飞雪磁珠法通用型 DNA/总 RNA 快速提取试剂盒利用磁珠在特定缓冲液条件下可与核酸结合的原理, 在磁场的作用下富集核酸, 最快可在 35min 内完成 DNA/RNA 的高质量提取。

相对于柱膜法核酸提取纯化试剂盒, 磁珠法核酸提取纯化试剂盒操作更为简便, 提取过程仅需一次离心, 提取产物质量更高, 所获得的核酸 A260/A280 的比值在 1.85-2.10 之间。

本试剂盒的提取液中不含苯酚、beta 巯基乙醇, 且提取过程中无需氯仿。除适用于常规样本的核酸提取之外, 也适用于多糖/多酚植物等复杂样品的核酸提取。

使用本试剂盒提取的基因组 DNA 可以用于转基因鉴定或基因片段扩增; 提取的总 RNA 可应用于如 cDNA 合成, RT-PCR, RT-qPCR, NorthernBlot, DotBlot, 体外翻译, 芯片分析, PolyA 筛选, 分子克隆, RNase 保护分析等各种下游分子生物学实验。

试剂盒组成

试剂盒成分	100T
Yfxbio®LS	100mL ¹⁾
Yfxbio®FMB For RNA	100mg ²⁾
Yfxbio®WS1	20mL ³⁾
Yfxbio®WS2	30mL ⁴⁾
Yfxbio®ES	10mL

注:

- 1) Yfxbio®LS 在温度较低的情况下会有盐离子析出, 若溶液出现浑浊现象, 可在 60°C 水浴锅中加热融化, 不影响使用效果;
- 2) Yfxbio®FMB For RNA 使用前需加入 100mL 洁净无水乙醇;
- 3) Yfxbio®WS1 使用前需加入 30mL 无水乙醇;
- 4) Yfxbio®WS2 使用前需加入 70mL 无水乙醇。

自备材料

无水乙醇 (新开封或专用于 RNA 提取), 磁力架, 1.5mL、2mL RNase-Free 离心管。

注意事项

- 1、仔细阅读本说明书, 每个品牌的产品都有各自特性, 切忌按照使用其他品牌试剂盒的经验, 来使用本试剂盒。
- 2、实验中所使用的全部容器都需要经过无酶处理, 或者直接购买 RNase-Free 商品化产品。
- 3、实验中所使用的无水乙醇, 需要新开封或者专用于 RNA 提取。
- 4、倾倒上清液时, 需要将离心管置于磁力架或者替代磁场中, 以免磁珠损失。

样本处理

- 1、组织样本/真菌: 取 50-100mg 组织样本或者 5×10^7 真菌, 液氮迅速、反复研磨成粉末; 或者组织匀浆处理, 进行后续提取操作。
- 2、悬浮细胞: 使用 1.5mL 或 2mL RNase-Free 离心管低速离心收集 5×10^6 细胞, 弃去上清, 加入 1mL Yfxbio®LS, 反复吹打或涡旋震荡 10s, 室温静置 5-10min。
- 3、贴壁细胞: 去除培养基, 按照 1mL Yfxbio®LS: 10cm² 细胞的比例, 使用 Yfxbio®LS 吹打收集细胞, 转移至 1.5mL 或 2mL RNase-Free 离心管, 反复吹打或涡旋震荡 10s, 室温静置 5-10min。
- 4、细菌: 使用 1.5mL 或 2mL RNase-Free 离心管离心收集约 2mL 菌体(菌体数量约为 5×10^7), 加入 1mL Yfxbio®LS, 反复吹打或涡旋震荡 10s, 65°C 静置 5-10min。
- 5、血液及其他液体: 取 300μL 液体样本, 加入 1mL Yfxbio®LS, 在 1.5mL 或 2mL RNase-Free 离心管中充分混匀或涡旋震荡 10s, 室温静置 5-10min。

注: 如果样品粘性较大, 65°C 处理 10min, 可提高提取产量。

提取步骤

- 1、室温 13000rpm 离心 5-10min, 吸取上清(约 950μL) 转移到 2mL RNase-Free 离心管中。
注: 如果样品中富含色素, 会在上清中形成一团不能沉淀的絮状物, 色素在后续清洗中会除去, 不会影响提取效果。
- 2、加入等体积的 Yfxbio®FMB For RNA, 用力颠倒混匀或者使用涡旋震荡器混匀 10s, 让磁珠尽量分散到提取液中, 室温静置 30S。
注: 1) 确保 Yfxbio®FMB For RNA 使用前已按照要求加入洁净无水乙醇, 且使用前要用力摇晃, 使磁珠均匀分散。
2) 确保磁珠彻底分散, 否则将影响纯度。
- 3、将离心管放置到磁力架或其它形式的磁场中, 静置 10S 至磁珠被全部吸附。
注: 1) 静置时间与磁场强度相关, 可以根据观察溶液澄清程度确定静置时间。
2) 如使用 12 孔磁力架, 建议使用 2mL RNase-Free 离心管, 与磁力架更加贴合。
3) 离心管盖上有时会残留磁珠, 可通过颠倒磁力架, 使磁珠富集到一起。
- 4、在磁场中倒去上清, 加入 500μL Yfxbio®WS1, 脱离磁场, 剧烈震荡或涡旋振荡 10s, 使磁珠完全散开, 将离心管置于磁力架或其它形式的磁场中, 静置 10S, 直至磁珠被完全富集。
- 5、在磁场中倒去上清, 加入 500μL Yfxbio®WS2, 脱离磁场, 剧烈震荡或涡旋振荡 10s, 使磁珠完全散开, 将离心管置于磁力架或其它形式的磁场中, 静置 10S, 直至磁珠被完全富集。
- 6、重复步骤 5。
- 7、在磁场中倒去上清, 按照下述方案清除残留乙醇。
7.1 用吸头吸掉底部和盖子上残留的液体, 并打开离心管盖让乙醇挥发 15min, 等待过程中会有液体再次聚集在管底, 需要再次吸弃。
7.2 打开离心管盖, 连同磁力架一起倒扣在干净的吸水纸上, 静置 15min。
7.3 瞬时离心后将离心管放回磁力架中, 吸弃管底残余液体, 静置 15min。
注: 1) 此步骤用以避免乙醇残留于 RNA 中, 从而对后续实验有严重影响。
2) 酒精挥发的时间与环境风速、温度、残余酒精量等因素有关, 需要根据实际情况进行细微调节, 但不可过度失水, 否则会导致 RNA 溶解困难。
3) 判断清除残留乙醇到合理程度的 3 种方法: A. 把离心管放入磁力架中, 乙醇清除时间 10-15min; B. 把离心管放入磁力架中, 发现反光程度降低到原有一半左右即可; C. 把离心管放入磁力架中, 发现磁珠表面刚出现龟裂时即可。
- 8、加入 50-100μL Yfxbio®ES, 剧烈震荡或涡旋振荡 10s, 使得磁珠完全重悬。
注: 细胞样本建议用 25-50μL 洗脱, 如 RNA 浓度过大, 逐步增加洗脱体系。
- 9、将离心管再次置于磁力架上, 澄清的溶液即为 DNA/RNA 溶液(可带磁珠保存)。