



CWE2100 Magbead Tissue&cell RNA Kit (Auto Plate)

CWE2100磁珠法组织&细胞RNA提取试剂盒 (预装型)

Cat. No. CW3705S-32

产品简介

本试剂盒适用于从细胞、普通组织等样本中提取RNA。配合康为32通道仪器，30-40分钟内即可完成反应，提取的总RNA纯度高，没有蛋白和其他污染，适用于RT-PCR、Real-Time RT-PCR等实验。

保存条件

DNase I及10×Reaction Buffer -20℃保存，其它组分室温 (15-30℃)

产品内容

Component	CW3705S-32 96 Preps
96 DW Auto Plate	6 Plates
8 channel Comb	12 Strips
Buffer RL	50 mL
DNase I (1U/ μ L)	2 \times 1 mL
10 \times Reaction Buffer	2 \times 1 mL

自备试剂及仪器

β -巯基乙醇 (组织样本)

康为32通道核酸提取仪 (CWE2100\CWE3200)

实验前准备及注意事项

1. 预防RNase污染, 应注意以下几方面:
使用无RNase的塑料制品和枪头, 避免交叉污染。
配制溶液应使用无RNase的水。
操作人员戴一次性口罩和手套, 实验过程中要勤换手套。
2. 提取的样品避免反复冻融, 否则影响RNA提取的量和质量。

操作步骤

1. 样品处理

1a. 组织: 将组织在液氮中磨碎。每20-30 mg组织加350-500 μ L Buffer RL (使用前检查是否加入 β -巯基乙醇, 使其终浓度为5%), 组织样本少于20 mg加350 μ L Buffer RL。样品体积不超过 Buffer RL体积的十分之一。

1b. 单层培养细胞: 将细胞从培养板中处理成细胞悬液, 离心得到细胞沉淀, 弃上清, 后加入350-400 μ L Buffer RL (小于6 cm²加入350 μ L Buffer RL), 反复吹打几次, 使其充分裂解。

1c. 细胞悬液: 12,000 rpm (~13,400 \times g) 离心1分钟弃上清, 得到细胞沉淀, 加入350-400 μ L Buffer RL, 反复吹打几次, 使其充分裂解。

注意: 1) 尽量除尽细胞培养基, 细胞培养基可能抑制细胞的裂解影响RNA产量。

2) 尽量使细胞充分悬浮并充分裂解, 否则影响RNA产量。

2. 样品充分裂解后, 室温放置5分钟, 使蛋白核酸复合物完全分离。
3. 12,000 rpm离心2-5min, 取上清进行以下操作 (此步为组织样本可选步骤)
4. 将预装板从试剂盒中取出放入水平离心机中300xg离心1分钟 (可选)。
5. 将预装板从离心机中取出, 小心去除热膜, 期间防止预装板震动。
6. 组织样本取上清, 细胞样本将全部裂解产物全部转移至96 DW Auto Plate第1&7列中,
7. 配置80 μL DNase I (单个样本) 混合液并加在96 DW Auto Plate第3&9列中。(DNase I 混合液配置: 取52 μL RNase-Free Water, 加入8 μL 10 \times Reaction Buffer和20 μL DNase I (1 U/ μL), 混匀即可)
8. 将深孔板和磁棒套放置提取仪对应位置, 点击对应程序并运行。

自备试剂及仪器

编号	孔位	名称	等待时间	混合时间	混合速度	循环数	磁吸时间 (sec)	体系 μL	温度 ($^{\circ}\text{C}$)
1	4	收集					10 s/次, 1次		
2	1	裂解	0	4 min	慢	1	5 s/次, 2次	850	室温
				4 min	慢				
3	2	混合	0	1 min	中	1	5 s/次, 2次	700	室温
4	3	孵育	0	8 min	慢	1	5 s/次, 2次	80	室温
5	4	混合	0	1 min	慢	1	3 s/次, 2次	700	室温
6	5	混合	0	1 min	慢	1	3 s/次, 2次	700	室温
7	5	干燥		3 min				700	室温
8	6	混合	0	4 min	慢	2	10 s/次, 2次	60	65 $^{\circ}\text{C}$
9	4	释放磁珠	0	5 s	快	1	0	750	室温

9. 约40分钟后, 仪器运行结束。将96 DW Auto Plate第6&12列中的样本转移至-80 $^{\circ}\text{C}$ 保存。