

*MicroGEM* 快速入门指南  
使用 **RNAGEM** 的  
RNA提取



更多详细信息，请访问  
[www.microgembio.com](http://www.microgembio.com)

或邮件  
[info@microgembio.com](mailto:info@microgembio.com)

MicroGEM International PLC: 仅供研究使用。  
所有产品均受限制使用许可。请参阅我们网站上的产品文档。

## 当您收到套件时

RNA GEM套件里的所有组件均在室温下是稳定的，并将在环境常温下抵达您的实验室。但是，一旦您打开任何试剂，或将DNase I重新悬浮于缓冲液中，组件应按照如下方式储存：

10x 缓冲液	4°C
RNA GEM™ 和 DNase I	-20°C

## 重新悬浮DNase I

DNase I是以冻干粉末形式提供。在使用之前，应将粉末溶解在1x DNase I反应缓冲液中（以10x溶液形式提供）。不同的套件尺寸含有不同酶量的试管（**请查看标签**）。请务必误报添加正确的缓冲液量（请参阅下表）。

1. 以10,000 x g离心DNase I管长达1分钟。这会将粉末沉淀到管的底部。
2. 在干净的环境中，打开管子并添加：

DNase 反应尺寸	10x DNase 缓冲液	无RNA酶水
50 Rxn	11 $\mu$ l	99 $\mu$ l
100 Rxn	25 $\mu$ l	225 $\mu$ l
200 Rxn	44 $\mu$ l	376 $\mu$ l
500 Rxn	105 $\mu$ l	945 $\mu$ l

*(MicroGEM提供额外的活性以满足移液错误)*

3. 涡旋并储存在-20°C。此溶液的浓度为每微升1单位。

单位定义：挡在pH 5.0下作用于高度聚合的DNA时，1单位使得在25°C下260nm处的吸光度每毫升每分钟增加0.001。0.005Kunitz单位在含有50mM Tris, 1mM Mg<sup>2+</sup>, pH 7.8的50 $\mu$ l反应中，37°C时会在10分钟内消化1 $\mu$ g的拉姆达DNA。

## 样本制备和处理

RNAGEM是用于从哺乳动物组织培养物中提取总核酸的套件，且优化用于产生RNA。此方法裂解细胞并消化蛋白质和核糖核酸酶。提取的RNA可用于RT-PCR和RT-qPCR。

- 所有操作应在无RNA酶环境或PCR工作台中进行。
- 仅使用经过认证的无RNA酶管和试剂。

RNAGEM的先行产率为10至约 $10^5$ 个细胞，时单细胞工作的理想选择。对于少量细胞，我们建议减少提取量。可能的最小体积取决于您使用的设备的蒸发量。对于不同的提取体积，RNAGEM的推荐量如下。使用1/10体积的10x **BLUE** 缓冲液。

萃取体积	细胞数	RNAGEM的体积
50 - 100 $\mu$ l	50,000 - 500,000	1 $\mu$ l
20 - 50 $\mu$ l	5000 - 50,000	1 $\mu$ l
5 - 20 $\mu$ l	100 - 5000	0.5 $\mu$ l
1 - 15 $\mu$ l	1 - 500	0.2 $\mu$ l

样本处理因不同的样本类型而异。本指南下页提供了一些建议程序的概述。有关更多信息，请访问[www.microgembio.com](http://www.microgembio.com)。

注意：RNAGEM对EDTA及其他螯合剂敏感。若细胞存在于含有EDTA的溶剂中，则应在200 x g下离心，并在使用前用1X **BLUE** 缓冲液进行洗涤。

## 7 处理不同的培养物类型

---

### 细胞悬浮

1. 以200 x g离心悬浮5分钟。
2. 去除所有液体。
3. 将颗粒重悬于RNA GEM提取试剂。

### 贴壁细胞

若细胞在烧瓶中，通过优选方法（胰蛋白酶或细胞刮刀）移出细胞并以200 x g离心悬浮5分钟。否则，可以将MicroGEM试剂直接添加到粘附层。

1. 去除所有液体。
2. 加入RNA GEM提取试剂。

### 保存在RNAlater™的细胞

1. 以3,000 x g离心悬浮5分钟。
2. 去除所有液体（在台式离心机上快速旋转可帮助收集最后几滴）。
3. 将颗粒重悬于RNA GEM提取试剂。

### 细胞颗粒

使用推荐方法可以提取多达 $5 \times 10^5$ 个细胞。最好的线性提取效率在 $<10^6$ 个细胞至约 $10^5$ 个细胞范围内实现。细胞颗粒可以直接使用。或者，可将颗粒重悬于1X BLUE 缓冲液，并添加适量到提取中。

### FACS 和 LCM

可以直接从提取试剂主混合物中收集细胞，或者将试剂直接添加到LCM的毛细管中。若细胞是从不同的缓冲液里收集，则有可能在收集后需要先添加1/10体积的MicroGEM缓冲液。我们建议在制备后一小时内使用MicroGEM试剂。对于长时间则应冷冻试剂。

## 7 步骤

---

(对于不同体积的缩放请查阅说明)

1. 添加:

细胞悬浮或颗粒

5  $\mu$ l            10x **BLUE** 缓冲液

1  $\mu$ l            *RNA*GEM

水至最终体积为50  $\mu$ l

2. 涡旋和培养:

75°C — 5分钟 (< 50,000个细胞) 或10分钟 (> 50,000个细胞)

保持在4°C

(此步骤应使用热循环仪。)

### **DNA酶处理 (若需要)**

(不同提取量的比例)

1. 往提取加入:

5  $\mu$ l 10x DNase 缓冲液

2  $\mu$ l DNase I

2. 涡旋和培养:

37°C—5分钟

75°C—5分钟

保持在4°C

3. 加入1/10体积的10x TE缓冲液 (提供的) 并储存在20°C 或以下。

## 技术提示和样本管里

---

- 此方法、酶制剂和缓冲液均进行了精心优化，以提取完整的RNA。不建议将酶以其他方法或缓冲液一起使用。若您需要修改方法，请邮件至：support@microgenbio.com。
- 吸光度260/280nm对于使用RNAGEM制备的核酸是无效的定量方法。为了准确定量，我们建议RT-qPCR和使用参考基因或基于荧光测定的对基因组DNA标准化。
- 与任何RNA制备方法一样，当样本在无RNA酶的环境中进行冰上处理以及使用经过认证的无RNA酶管和试剂时能获得最佳结果。
- 对于长期储存，RNA应储存在-80°C。
- 或者，在TE缓冲液里的RNA可以通过NH<sub>4</sub>OAc/乙醇（0.1体积的5 M NH<sub>4</sub>OAc，和2.5体积的100%乙醇）沉淀并储存在-20°C或以下。

More information is available on our website at [www.microgenbio.com](http://www.microgenbio.com)