

# 操作手册

## RNA 纯化浓缩试剂盒

|                      |           |           |                    |
|----------------------|-----------|-----------|--------------------|
| Catalog No. TR115-50 | (50 次反应)  | TR113-50  | (50 次反应 带 DNase I) |
| TR115-200            | (200 次反应) | TR113-200 | (200 次反应带 DNase I) |

### Highlights

- 适用于从各种酶反应，相分离（添加完 TRIZOL 之后），提取好的总 RNA 中纯化和浓缩到 RNA( $\geq 17$  nt)。
- 10 $\mu$ l 的洗脱体积可以回收浓缩到高质量的 RNA, 得到的 RNA 可应用于逆转录，芯片，高通量测序等实验。
- 5 分钟内完成整个操作步骤。

## 产品组成:

| 试剂盒组成                       | 保存    | 50 次                     | 200 次   |
|-----------------------------|-------|--------------------------|---------|
| RNA 结合液                     | 室温    | 25 ml                    | 100 ml  |
| RNA 预洗液                     | 室温    | 25 ml                    | 100 ml  |
| RNA 洗涤液                     | 室温    | 12 ml<br>第一次使用前按说明加指定量乙醇 | 2x24 ml |
| DNase I                     | -20°C | 250U                     | 4 X250U |
| DNA 消化液                     | 室温    | 4 ml                     | 16 ml   |
| RNase-free H <sub>2</sub> O | 室温    | 5 ml                     | 10 ml   |
| 1 号柱                        | 室温    | 50 个                     | 200 个   |
| 收集管 (2ml)                   | 室温    | 50 个                     | 200 个   |

## 特性:

1. 样品来源: DNase I处理的RNA, 体外转录产物,TRIZOL等类似试剂裂解后的分离相, 其他粗提的RNA。
2. 样品范围: 17nt到23kb之间。
3. RNA纯度: 高质量的RNA可应用于, 逆转录, 芯片, 高通量测序等敏感的下流实验。
4. RNA结合量: 每个柱子可在10 $\mu$ l水中洗脱最多10 $\mu$ g的RNA。

## 试剂制备

**RNA 洗涤液** 在使用之前一定要配好, 添加好乙醇后在试剂瓶上做好标记!!!

添加 48ml 无水乙醇到 12ml 的 **RNA 洗涤液** 中

添加 96ml 无水乙醇到 24ml 的 **RNA 洗涤液** 中

**DNase I** 在使用之前添加 275 $\mu$ l 试剂盒自带的 RNase-free H<sub>2</sub>O 配成溶液。

## **操作步骤:**

所有离心操作的离心力均在10,000-16,000 x g范围内进行。≥17 nt的RNA将全部被回收。对于痕量DNA的去除，可以采用DNase I进行柱上消化的方法。

1. 添加2倍体积的RNA结合液到每1体积的样品中，混匀。（例如：100μl的RNA结合液添加到50μl的RNA样品中）
2. 添加等体积的（95-100%）无水乙醇到上述混合物中混匀（例如：150μl的无水乙醇添加到150μl的混合物中。）
3. 将上述混合物放入套在收集管上的1号柱子里，离心1分钟。去除滤出液。
4. 柱上DNase I消化处理（推荐）此步骤主要是为了去除痕量的DNA。
  - a) 添加400μl的RNA洗涤液2到1号柱里，离心1分钟。去除滤出液。
  - b)对于每一次的样品处理需要制备40μl的DNase I反应液。配比为 DNase I 5μl     DNA消化液 35μl
  - b)直接添加混匀的40μl DNase I反应液到1号柱上，在室温下（20-30℃）孵育15分钟。
5. 添加400μl RNA预洗液到柱中，离心1分钟。去除滤出液。
6. 添加700μl RNA洗涤液到柱中，离心1分钟。去除滤出液。
7. 添加400μl RNA洗涤液到柱中，离心2分钟以确保不残留乙醇。去除滤出液。
8. 取出1号柱，放入一个无RNA酶的离心管中，在吸附膜的中间部位加15μl RNase-free water（事先在 65-70℃水浴中加热效果更好），室温放置2分钟，离心1分钟洗脱RNA。

## **以下操作步骤针对从TRIZOL或我公司TRicom等类似试剂的裂解物分离相中提取RNA:**

1. 样品的裂解步骤参照TRicom试剂说明书或其他公司说明书，在添加完氯仿之后，将上层的上清液转移到一个无RNA酶的离心管中。
2. 添加等体积的（95-100%）无水乙醇到上述离心管中，与上清液混匀。
3. 继续操作步骤的第三步进行后续操作。

## 针对不同片段的回收步骤：

所有离心操作的离心力均在10,000-16,000 x g范围内进行。每次纯化过程需要用到2个柱子。

1. 首先需要制备RNA结合液与（95-100%）无水乙醇的等体积混合物（例如：50 $\mu$ l的RNA结合液和50 $\mu$ l的无水乙醇混匀）。
2. 添加2倍体积的上述混合物到样品中混匀。（例如：添加100 $\mu$ l的混合物到50 $\mu$ l的样品中混匀。）
3. 将上述混合物放入套在收集管上的1号柱子里，离心1分钟。**不要倒掉滤出液。**

4.

范围在17nt-200nt之间的RNA在滤出液中。

- a. 添加1体积的无水乙醇并且混匀(例如：添加150 $\mu$ l的无水乙醇到150 $\mu$ l的样品中)
- b. 将混合物转移到一个新的柱子里，柱子套在一个收集管上，并且离心1分钟，去除滤出液。

大于200nt的RNA保存在柱子上。

直接进行下一步的操作步骤。

5. 添加400 $\mu$ l RNA预洗液到柱中，离心1分钟。去除滤出液。
6. 添加700 $\mu$ l RNA洗涤液到柱中，离心1分钟。去除滤出液。
7. 添加400 $\mu$ l RNA洗涤液到柱中，离心2分钟以确保不残留乙醇。去除滤出液。
8. 取出1号柱，放入一个无RNA酶的离心管中，在吸附膜的中间部位加15 $\mu$ l RNase-free water（事先在65-70 $^{\circ}$ C水浴中加热效果更好），室温放置2分钟，离心1分钟洗脱RNA。