

操作手册

微量总 RNA 提取试剂盒(配合 TRIZOL 使用)

Catalog No. TR206-50	(50 次反应含 DNaseI)
TR206-200	(200 次反应含 DNaseI)
TR206-50N	(50 次反应无 DNaseI)
TR206-200N	(200 次反应无 DNaseI)

Highlights

- 适用于从细胞，组织，酵母菌，植物，细菌或生物液体（任何 TRIZOL 或类似产品可以裂解的样品）中提取到总 RNA（含 microRNA）。
- 无需进行相分离，无需使用氯仿，无需沉淀过程。
- 提取到的 RNA 不含 DNA,并可应用于 Q-PCR，高通量测序等实验。
- 整个过程仅需 10 分钟。

产品组成:

试剂盒组成	保存	50 次	200 次
RNA 洗涤液 1	室温	40 ml 第一次使用前按说明加指定量乙醇	160 ml
RNA 洗涤液 2	室温	12 ml 第一次使用前按说明加指定量乙醇	48 ml
DNase I	-20℃ (溶解后)	1 管 (1500U)	4 管 (1500U)
DNA 消化液	室温	4 ml	16 ml
RNase-free H ₂ O	室温	6 ml	30 ml
1 号柱	室温	50 个	200 个
收集管 (2ml)	室温	100 个	400 个

特性:

1. 样品来源: TRIZOL等类似试剂裂解的样品。
2. 样品范围: ≥17核苷酸。
3. RNA纯度: 高质量的RNA可应用于高通量测序等敏感的下流实验。
4. RNA结合量: 每个柱子可最多结合10μg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 10ml 或 40ml 的无水乙醇 (95-100%) 到 40ml 或 160ml 的 **RNA 洗涤液 1** 中。

添加 48ml 100% 的乙醇 (或 52 ml 95% 的乙醇) 到 12ml 的 **RNA 洗涤液 2**

添加 192ml 100% 的乙醇 (或 208 ml 95% 的乙醇) 到 48ml 的 **RNA 洗涤液 2**

试用装需要按照瓶子上标注的量来添加。

DNase I 在使用之前添加 275μl 试剂盒自带的 RNase-free H₂O 配成 6U/μl 的溶液。

操作步骤:

整个步骤是由2部分组成：(I) 样品裂解匀浆 (II) 样品纯化。

以下离心力如无特殊说明均在10,000-16,000 x g范围内离心1分钟。

(I) 样品裂解匀浆

此步骤主要参考TRIZOL等类似裂解试剂说明书的裂解液用量，以下给出我公司提供的可完美替换TRIZOL的TRIcom试剂用量作为参考。

a.组织

组织：每5mg组织加300 μ l的TRIcom。裂解之后需要离心去除不溶的组织，然后将上清移置到一个RNase-free的离心管内进行下面的样品纯化步骤。

b.细胞

依据细胞的数量来决定所需的TRIcom用量

动物（ 10^5 细胞以内加100 μ l, 10^6 细胞加300 μ l） 细菌（ 10^8 细胞以内加300 μ l）

酵母（ 10^7 细胞以内加300 μ l）

c. 液体样品：直接取1体积的液体样品，加入3 倍体积裂解液（推荐100 μ l全血加入300 μ l以内），充分振荡并且混匀。

(II) 样品纯化：

1. 加入等体积(95-100%)的无水乙醇到上一步TRIcom或TRIZOL裂解液中混匀。

2. 将上述混合物放入套在收集管内的1号柱里，离心1分钟。去除滤出液。

3. 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400 μ l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40 μ l的DNase I反应液。配比为 DNase I 5 μ l（6U/ μ l） DNA消化液 35 μ l

b)直接添加混匀的40 μ lDNase I反应液到1号柱上，在室温下（20-30 $^{\circ}$ C）孵育15分钟。

4. 添加400 μ l的RNA洗涤液1到1号柱子里，离心1分钟。去除滤出液。
5. 添加700 μ l的RNA洗涤液2到1号柱子里，离心2分钟以免洗涤液残留。
6. 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 μ 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。