

# 操作手册

## 小量总 RNA 提取试剂盒(配合 TRIZOL 使用)

Catalog No. TR254 2x96 次反应

TR256 4x96 次反应

### 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。

Ver.1.2.0

## 产品组成:

| 试剂盒组成                       | 保存         | 2x96 次      | 4x96 次                      |
|-----------------------------|------------|-------------|-----------------------------|
| RNA 洗涤液 1                   | 室温         | 160 ml      | 2x160 ml<br>第一次使用前按说明加指定量乙醇 |
| RNA 洗涤液 2                   | 室温         | 48 ml       | 2x48 ml<br>第一次使用前按说明加指定量乙醇  |
| DNase I                     | -20℃ (溶解后) | 4 管 (1500U) | 8 管 (1500U)                 |
| DNA 消化液                     | 室温         | 2x4 ml      | 16 ml                       |
| RNase-free H <sub>2</sub> O | 室温         | 10 ml       | 30 ml                       |
| 96 孔结合板 (深)                 | 室温         | 2 块         | 4 块                         |
| 96 孔收集板                     | 室温         | 4 块         | 8 块                         |
| 96 孔洗脱板                     | 室温         | 2 块         | 4 块                         |
| 封板膜                         | 室温         | 2 张         | 4 张                         |

## 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: 每个孔可最多结合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!!!

试用装需按照瓶子上的标注添加无水乙醇

添加 40ml 的无水乙醇 (95-100%) 到 160ml 的 **RNA 洗涤液 1** 中。

添加 192ml100%的乙醇 (或 208 ml 95%的乙醇) 到 48ml 的 **RNA 洗涤液 2**

**DNase I** 在使用之前一定要按照管子上的说明用试剂盒自带的 RNase-free H<sub>2</sub>O 配成溶液。

## 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。

1.添加合适比例的TRIcom来裂解样品，重悬细胞或匀浆组织

| 动物细胞             | 组织   | 生物液体   | TRIcom 添加量 |
|------------------|------|--------|------------|
| ≤10 <sup>6</sup> | ≤5mg | ≤100μl | 300μl      |

2.去除沉淀，离心并且转移上清到一个收集板里。

### (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上清中混匀。

2. 将上述混合物放入96孔结合板（深）孔中，并将结合板套在一个新的收集板里，离心。取下96孔结合板（深），将收集板里的滤出液倒掉。

3. 板上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到结合板的每个孔里，离心。去除滤出液。

b1)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

b2)直接添加混匀的40μlDNase I反应液到结合板的每个孔里，在室温下（20-30℃）孵育15分钟。

4. 添加400μl的RNA洗涤液1到结合板的每个孔里，离心,去除滤出液。

5. 重复步骤4。

6. 添加800μl的RNA洗涤液2到结合板的每个孔里，离心，去除滤出液。为了保证完全去除洗涤液，额外离心空转一次。

7. 添加25μl（最小10μl）RNase-free water到结合板的每个孔里，离心，洗脱RNA。为了防止RNA挥发和污染

请使用封板膜进行密封。