

真菌/细菌微量RNA提取试剂盒

(使用说明书 Ver.0.0.3)

产品说明

- ✧ 适用于从任何难溶解的细菌或真菌样本中快速提取总RNA (包括small/microRNA)。
- ✧ 配套的裂解管(0.1&0.5mm)是一种超高密度、抗断裂、化学惰性陶瓷珠。可用于对任何难溶解的革兰氏阳性或阴性细菌或真菌样品进行强力均质。
- ✧ 提取好的RNA可用于NGS、RT/qPCR和任何下游应用等。

产品货号：

TR214- 50 (50次反应 无DNaseI)

TR214- D-50 (50次反应 含DNaseI)



扫描二维码了解更多产品信息

目录Contents

产品组份	1
注意事项	1
产品特性	2
产品描述	2
溶液制备	3
操作步骤	3
◇ 附录	4
FAQ常见问题及解决方法	5
其他产品订购信息	6
组件查询	7

产品组份

试剂盒组成	TR214-10	TR214-50	TR214-D-50	保存
RNA裂解液	10ml	50ml	50ml	室温
RNA预洗液	5ml	25 ml	25 ml	室温
RNA洗涤液 (未添加乙醇)	3ml	12ml	12ml	室温
	第一次使用前按说明加指定量乙醇			
无DNase/RNase水	1ml	5ml	5ml	室温
DNase I	-	-	1500Ux1管	-20°C
DNA消化液	-	-	16ml	室温
裂解管 (0.1&0.5mm)	10个	50个	50个	室温
3号CG纯化柱(绿)	10个	50个	50个	室温
2号CR纯化柱	10个	50个	50个	室温
2ml收集管	10个	50个*2	50个*2	室温

注意事项

- ✧ 简石生物产品仅供研究使用，应由专业人员操作。本试剂盒中包含的一些试剂是刺激物。请戴好防护手套和护眼用品。遵循您的研究机构或设施制定的安全准则和规则。售出后一年内产品可质保。试剂盒已经过大量的常规检测来保证其可操作性。
- ✧ 更换新手套。皮肤表层附着微生物，可能导致RNase污染。
- ✧ 使用无RNase的塑料制品和枪头，避免交叉污染。
- ✧ RNA在RNA裂解液中时不会被RNase降解。但提取后过程中应使用不含RNase的塑料和玻璃器皿。
玻璃器皿可在150°C烘烤4h；
塑料器皿可在0.5 MNaOH中浸泡10min，用水彻底清洗。灭菌后，即可去除RNase。
- ✧ 配制溶液应使用无DNase/RNase水。

(将水加入到干净的玻璃瓶中，加入DEPC至终浓度0.1%(v/v)，混匀后放置过夜，高压灭菌)

产品特性

- ✧ 样本来源：最多 50-100mg (湿重) 细菌或真菌。这相当于大约 109 个细菌细胞或 108 个酵母细胞。
- ✧ 大小：总 RNA，包括small/microRNA ($\geq 17nt$)。
- ✧ 纯度：A260/A280和A260/A230 >1.8 。RNA可直接进行下一代测序、RT/qPCR等。
- ✧ 结合能力：2号CR纯化柱的 RNA 收率高达 50 μ gRNA。
- ✧ 兼容性：对于存储在保存试剂中的样品：DNA/RNASHield™、RNAprotect®、Allprotect®、通用运输介质/病毒运输介质(UTM®/VTM®)和RNAlater™。
- ✧ 洗脱体积： $\geq 25\mu$ l无DNase/RNase水。
- ✧ 所需设备（用户自备）- 微型离心机、涡旋、和高速匀浆器/细胞破碎器或研磨珠（如简石生物 TI2023-24、MPBio FastPrep-24、Bertin Precellys 等）。

产品描述

真菌/细菌微量RNA提取试剂盒可从任何难溶解的革兰氏阳性（或阴性）细菌中快速分离出总RNA。配套的裂解管(0.1&0.5mm)是一种超高密度、抗断裂、化学惰性陶瓷珠。可用于对任何难溶解的革兰氏阳性或阴性细菌或真菌样品进行强力均质。

3号CG纯化柱可大容量去除 DNA；

2号CR纯化柱可有效结合总 RNA。RNA 的洗脱量 $\geq 25\mu$ l。

可得到高质量的总RNA（包括small/microRNA），适用于NGS、RT/qPCR、杂交等应用。

均一化的裂解

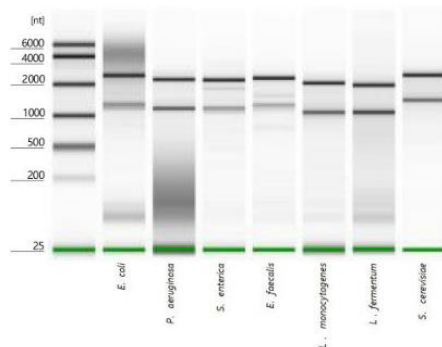


与研磨仪或高速细胞破碎仪配对使用时，先进的裂解管 (0.1 & 0.5 mm) 可以完美地破坏难以破碎的微生物。

*裂解细菌需要小的颗粒；裂解真菌需要大的颗粒

高质量的RNA

使用真菌/细菌微量RNA提取试剂盒，从不同的微生物物种中分离出高质量的总RNA，包括革兰氏阴性菌（大肠杆菌、绿脓杆菌、沙门氏菌）、革兰氏阳性菌（肠球菌、单卵双歧杆菌、发酵乳杆菌）和酵母菌（酿酒酵母）。通过Agilent 2200 TapeStation®系统可视化RNA。



溶液制备

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！

需要添加 48ml100%无水乙醇（或 52ml95%无水乙醇）到 12ml 的 RNA洗涤液中并做好标记。

试用装需要按照瓶子上标注的量来添加。

溶解冻干粉状态的DNaseI 需要按照管子上的量添加无DNase/RNase水。

一般250U的DNaseI 需要添加275µl 的无DNase/RNase水。

操作步骤:

注意：确保RNA提取过程是在一个无RNase的环境中，除非特别指定，所有离心步骤均在室温下进行，并以 10,000-16,000xg 离心 30 秒。

样品种类及 RNA裂解液 添加量

样品种类		样品量	需添加量 RNA裂解液	样品前处理（样品裂解/匀浆）
微生物	细菌/真菌	≤10 ⁹ 50- 100mg(湿重)	800µl	液氮研磨 / 样品破碎仪（“8”字旋转）
	酵母	≤10 ⁸ 50- 100mg(湿重)	800µl	参考 步骤1.2
DNA/RNA 保护剂	中的组织/ 细胞	100µl	100µl	添加了DNA/RNA保护剂的匀浆样品放到室温下（无需去除保护剂），添加1倍体积的RNA裂解液、混匀室温放置3min。
RNAlater	中的组织/ 细胞			首先去除RNAlater™，只保留样品。然后参考上述对应的样品前处理方案。

推荐步骤：	其他步骤：
配合均质仪	液氮研磨
 <p>TI2023-24 生物样品均质仪 (8字旋转破碎仪)</p>	
<ol style="list-style-type: none"> 1. 添加样品到裂解管中，然后添加800μl的RNA裂解液到裂解管中，拧紧盖子。 	<ol style="list-style-type: none"> 1. 将样品在液氮里充分研磨成粉末。
<ol style="list-style-type: none"> 2. 使用样品均质仪裂解样品。如果使用高频振荡器时间可以适当缩短，高速仪器：(如简石TI2023-24、MPBioFastPrep-24、Bertin Precellys) 机器处理程序：(6m/s, 30s/周期x2) 低速仪器：(如VortexGenie) 需要5-10分钟。推荐使用简石生物样品均质仪TI2023-24 样品均质仪 (“8”字旋转) + 裂解珠 (0.5mm&0.1mm)。 	<ol style="list-style-type: none"> 2. 把研磨好的的粉末迅速转移到收集管中，加入 800μlRNA裂解液，用枪头反复吹打使粉末和裂解液充分混匀，室温放置3分钟，使得核酸和蛋白复合物完全分离。
<ol style="list-style-type: none"> 3. 将裂解管/收集管离心1分钟。 4. 将上述步骤中400μl上清加到3号CG纯化柱中，3号CG纯化柱套在一个收集管内，离心1分钟。保留滤出液。 5. 添加等体积的无水乙醇到滤出液中混匀。 6. 将上述混合液添加2号CR纯化柱中，2号CR纯化柱套在一个收集管内，离心1分钟。去除滤出液。 7. 添加400μlRNA预洗液到2号CR纯化柱中，离心1分钟。去除滤出液。 8. 添加700μlRNA洗涤液到2号CR纯化柱中，离心1分钟。去除滤出液。 9. 添加400μlRNA洗涤液到2号CR纯化柱中，离心2分钟。去除滤出液。 10. 将2号CR纯化柱移至干净的1.5ml离心管中直接添加50μl的无DNase/RNase水到柱基质上，室温下放置2-5分钟，离心1分钟来洗脱RNA 	

附录：DNaseI 柱上消化步骤

柱上DNaseI消化处理 (推荐)此步骤，主要是为了去除痕量的DNA。

在处理完第 6 步之后：

- a) 添加400μl的RNA洗涤液2到2号C纯化柱里离心1分钟,去除滤出液。
- b) 对于每一次的样品处理需要制备80μl的DNaseI反应液。配比为：DNaseI 5μl，DNA消化液75μl。
- c) 直接添加80μl的 DNaseI 反应液到 2号CR纯化柱上，在室温下 (20-30°C) 孵育 15 分钟。继续从第 7 步开始继续操作

FAQ常见问题及解决方法

Q,问题	A,可能的原因和建议的解决方案
<p>是否需要DNaseI处理；溶解后的DNaseI如何保存</p>	<p>1.简石生物提供的DNaseI套件（DNase和DNA消化缓冲液）的目录号是TE1010；如果下游应用需要无DNA的RNA，或上样量大于说明限制范围，我们建议柱上做DNaseI处理，后续洗涤可去除片段化的DNA，避免浓度虚高。</p> <p>2.冻干DNaseI在室温下比较稳定。液体悬浮后，可选择冷冻储存(-20°C)等分试样。尽可能减少冻融循环。冻融会降低酶活性。</p>
<p>样品可以在处理前，储存在RNA裂解液里吗？</p>	<p>可以，RNA溶解缓冲液中的样品在室温下过夜是稳定的，并且可以冷冻储存（-80摄氏度）。但是请确保在冷冻之前充分裂解和均质化样品。如需进行RNA纯化之前，请将样品恢复至室温。</p>
<p>RNA洗涤液用完了，可以使用其它溶液替代吗？</p>	<p>使用80%乙醇作为替代品。RNA洗涤缓冲液也单独出售。</p>
<p>如何提高纯度，RIN值并消除污染？（及A260/230,A260/280比率，DNA,苯酚，蛋白质，盐等）</p>	<p>纯度、RIN和/或任何类型的污染都可能由初始样品制备（即样品裂解效率低下）引起。需要优化/增加裂解试剂的体积（例如，TRI试剂/TRIzol/TRIcom或RNA裂解液）。</p>
<p>如何提高RNA产量？</p>	<p>1.确保完全裂解，增加裂解试剂的体积（即增加或滴定TRI试剂/TRIzol/TRIcom或RNA裂解缓冲液的体积）。</p> <p>2.裂解物应透明（不透明或粘稠）。通过离心（如果需要）沉淀碎片并处理澄清的上清液。</p> <p>3.在添加TRI试剂/TRIzol/TRIcom或RNA裂解液之前，在DNA/RNA保护剂（TR110）中进行酶处理（蛋白酶K,酵母裂解酶等）/或机械匀浆。（使用对应不同样品的珠裂解管+破碎仪处理）</p>

其他产品订购信息

DNA/RNA保护剂系列		
TR110	DNA/RNA Shield-固体样品保护剂	瓶
TR120	DNA/RNA Shield-2X液体样品保护剂	瓶
TS001- TS010	各类样品的采样套装 (含RNA保护剂)	套
难以裂解样品-辅助耗材和设备		
TS6003	植物/动物组织-裂解管 (2.0 mm)	50支/包
TS6012	微生物-裂解管 (0.1 + 0.5 mm)	50支/包
TS6014	组织/昆虫中的微生物-裂解管 (0.1 + 2.0 mm)	50支/包
TI2019	样品研磨仪 (垂直震荡)-适合植物/组织DNA提取	1台
T9548R	冷冻研磨仪 (垂直震荡)-适合植物/组织RNA提取	1台
TI2023-24	样品均质仪 (“8”字旋转常温款)-适合微生物DNA	1台
TI2023-24R	冷冻样品均质仪 (“8”字旋转低温款)-微生物RNA	1台
RNA提取纯化系列		
Direct-zol (从Trizol裂解物中纯化RNA)		
TR199	总RNA提取试剂 (TRIzolReagent-LS) (液体样本)	50/100ml
TR201	总RNA提取试剂 (TRIzol Reagent) (固体样本)	50/100ml
TR205	小量总RNA提取试剂盒-50	50/200次
TR206	小量总RNA提取试剂盒-50	50/200次
TB210	总RNA提取试剂盒 (配合TRIZOL磁珠法)	32/96次
Quick-RNA (任何样品的RNA提取纯化)		
TR150	快速RNA微量提取试剂盒-10	50/200次
TR154	快速RNA小量提取试剂盒-100	50/200次
TR134	病毒RNA提取试剂盒	50/200次
TR202	环境样品通用DNA/RNA提取试剂盒	50次
TR121	全血RNA提取试剂盒 (DNA/RNASHield)	50次
TR108	FFPE样品RNA提取试剂盒	50次
TR159	血清血浆cfRNA提取试剂盒 (离心柱)	50次
TR225	多糖多酚植物RNA提取试剂盒 (离心柱)	50次
TB226	多糖多酚植物RNA提取试剂盒 (磁珠法)	48次
RNA-Seq (RNA建库产品)		
R3000	Zymo-Seq RiboFree Total RNA Library Kit	12/96次

组件查询

组件名称	货号	规格	储存条件
RNA裂解液	TR1060-1-10	10ml	室温
	TR1060-1-50	50ml	
RNA预洗液	TR1060-2-5	5ml	室温
	TR1060-2-25	25ml	
RNA洗涤液 (未添加乙醇)	TR1003-3-3	3ml	室温
	TR1003-3-12	12ml	
无DNase/RNase水	TW1001-1	1ml	室温
	TW1001-5	5ml	
DNase I	TE1011-A	1500Ux1管	-20°C
DNA消化液	TE1010-1-16	16ml	室温
裂解管 (0.1&0.5mm)	TS6012-10	10个	室温
	TS6012-50	50个	
3号CG纯化柱(绿)	TC1006-10-G	10个	室温
	TC1006-50-G	50个	
2号CR纯化柱	TC1078-10	10个	室温
	TC1078-50	50个	
2ml收集管	TC1001-10	10个	室温
	TC1001-50	50个	