

血清/血浆游离RNA提取试剂盒（离心柱）

（使用说明书 Ver.1.0.6）

产品说明

- ◇ 可从3ml以内的血清/血浆或其它液体样品中提取到高纯度的游离RNA。
- ◇ 获得的RNA产量高、纯度好，可以直接用于高通量测序等分子生物学实验。
- ◇ 和同类产品比较，该试剂盒的结合体系最多可回收515xmicroRNA。

产品货号：

TR159-10（10次反应）

TR159-50（50次反应）



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	1
溶液制备	2
操作步骤	2
组件查询	3

产品组份

试剂盒组成	10次	50次	保存
蛋白酶 K	20mg	3*20mg	-20°C (混匀之后)
蛋白酶K保存液	1.2ml	3*1.2ml	-20°C
游离RNA消化液	10ml	50ml	室温
游离RNA结合液	20ml	100ml	室温
RNA回收液	2ml	10ml	室温
RNA洗涤液1	10ml	50ml	室温
RNA洗涤液2	3ml	12ml	室温
无DNase/RNase水	1ml	4ml	室温
1号C纯化柱	10个	50个	室温
25ml漏斗	10个	25个*2	室温
3号Y纯化柱(黄)	10个	50个	室温
2ml收集管	/	100个	室温

注意事项

- ✧ 简石生物产品仅供研究使用，并应由专业人员操作。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。
- ✧ 避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、pH值变化，各溶液使用后应及时盖紧盖子。

产品特性

- ✧ 样品种类:最多3ml的血清，血浆，羊水，脑脊液（CSF），尿液等液体样本。
- ✧ 纯度:获得的游离RNA可以直接用于qPCR,高通量测序等各种分子生物学实验。
- ✧ 片段大小:RNA≥17nt。

- ✧ 产量：本试剂盒针对无细胞的游离核酸提取经过优化，总量根据不同的样品个体差异可能会比较大。一般从 1ml 的血清或血浆中提取到游离RNA的量在1-100ng。
- ✧ 需要的仪器设备:水浴锅或者金属浴。微型离心机，负压多联器或立式离心机。
- ✧ 操作时间:一般30-45分钟可以处理10个样品。样品消化步骤需要2个小时。

溶液制备

- ✧ 使用前需要添加1040μl蛋白酶K保存液到蛋白酶K(20mg)里。蛋白酶K的终浓度约为20mg/ml。混匀之后放在-20°C保存。
- ✧ 使用前需要添加48ml 95-100%的无水乙醇到12ml的RNA洗涤液2。

操作步骤:

所有的离心步骤均在 $\geq 12,000 \times g$ 的离心力下离心30秒除非特殊说明。一般常温（20-30°C）进行以下操作步骤：

1. 在 $\geq 12,000 \times g$ 的离心力下离心样品15分钟来去除细胞杂质和沉淀。
2. 按照每200μl样品（血浆，血清或其他生物液体样品）添加200μl游离RNA消化液，放入一个15ml的离心管，混匀。如果样品体积 ≥ 1.5 ml，则需要使用50ml的离心管。
3. 按照每200μl样品添加10μl的蛋白酶K溶液，涡旋混匀10秒，37°C下孵育2小时。
4. 添加1体积的游离RNA结合液到消化的样品中并且涡旋混匀10秒。（例如400μl结合液到410μl的消化样品中）
5. 添加1.5倍体积的100%的异丙醇到步骤4中的混合物中，涡旋混匀10秒。（例如1.2ml的异丙醇到810μl的混合物中。）

快速操作表格

样品体积	200 μl	500 μl	1 ml	3 ml (最大)
游离RNA消化液	200 μl	500 μl	1 ml	3 ml
蛋白酶K	10 μl	25 μl	50 μl	150 μl
涡旋混匀并且在37°C下孵育2小时				
游离RNA结合液	400μl	1 ml	2ml	6ml
100%异丙醇	1.2ml	3 ml	6ml	18ml
总体积	2ml	5 ml	10ml	30 ml

*如处理3ml样品，试剂盒组件不够需要额外订购。

6. 将25ml漏斗套到3号Y纯化柱(黄)内，连接紧密后放置在负压多连器上。
7. 倒入上述步骤6的混合液，打开真空开关使液体完全通过纯化柱。确保液体完全通过纯化柱并且没有残留液体下流后，关闭真空泵并拔掉连接的25ml漏斗。
8. 倒入600μlRNA洗涤液1到纯化柱上，打开真空开关，让液体完全通过3号Y纯化柱(黄)，关闭真空泵。

9. 将3号Y纯化柱(黄)套在2ml收集管上,然后放置在台式离心机上全速离心2分钟以去除液体残留,然后将3号Y纯化柱(黄)套在一个干净的1.5ml离心管内。
10. 添加200 μ l的RNA回收液到3号Y纯化柱(黄)中,室温放置3分钟,离心,保存滤出液。
11. 添加300 μ l无水乙醇(95-100%)到滤出液中,混匀。
12. 将1号C纯化柱套在一个新的2ml收集管上。添加上述混合物到柱中,离心去除滤出液。
13. 添加400 μ l的RNA洗涤液1,离心去除滤出液。
14. 添加700 μ l的RNA洗涤液2,离心去除滤出液。
15. 添加400 μ l的RNA洗涤液2到1号C纯化柱中,离心2分钟完全去除纯化柱上残留的液体,将1号C纯化柱转移到一个干净的离心管内
16. 添加15 μ l的无DNase/RNase水到柱基质上,放置2分钟然后离心来洗脱游离DNA或游离RNA。

附录1: 处理保存在DNA/RNASHield™保护剂中的样品

对于保存在DNA/RNASHield™保护剂(货号TR120)中的无细胞生物样品。采用下述改进的步骤进行操作。

1. 每1ml的DNA/RNA Shield溶液的样品添加25 μ l的蛋白酶K溶液,涡旋混匀10秒,37°C下孵育2小时。(例如:500 μ l的无细胞液体,500 μ l的DNA/RNA Shield保护剂,25 μ l蛋白酶K)
2. 添加1体积的游离RNA消化液到上述消化的样品中并且涡旋混匀10秒。(例如1ml游离RNA结合液到1ml的消化样品中)
3. 添加1体积的游离RNA结合液到到步骤2的混合物中并且涡旋混匀10秒。(例如2ml游离RNA结合液到2ml的混合物中)
4. 添加1.5倍体积的100%的异丙醇到步骤3中的混合物中,涡旋混匀10秒。(例如6ml的100%异丙醇到4ml的混合物中)

快速操作表格

样品体积	200 μ l	500 μ l	1 ml	3 ml (最大)
蛋白酶K	5 μ l	12.5 μ l	25 μ l	75 μ l
涡旋混匀并且在37°C下孵育2小时				
游离RNA消化液	200 μ l	500 μ l	1 ml	3 ml
游离RNA结合液	400 μ l	1 ml	2ml	6ml
100%异丙醇	1.2ml	3 ml	6ml	18ml
总体积	2ml	5 ml	10ml	30 ml

5. 接下来按照主操作步骤的第6步进行游离RNA提取。

附录2: 游离核酸血液保存管

本试剂盒兼容我公司游离核酸血液保存管(货号TS002)或其他公司同类产品如streck。

1. 在 $\geq 12,000$ xg的离心力下离心样品15分钟来去除细胞杂质和沉淀。
2. 按照每200 μ l样品(血浆,血清或其他生物液体样品)添加200 μ l游离RNA消化液,放入一个15ml的离心管,混匀。如果样品体积 ≥ 1.5 ml,则需要使用50ml的离心管。
3. 接下来按照主操作步骤的第3步进行游离RNA提取。

组件查询

组件名称	货号	规格	储存条件
蛋白酶K	TD3001-2-B	20mg	-20°C (混匀之后)
蛋白酶K保存液	TD3001-2-D	1.2ml	-20°C
游离RNA消化液	TR1059-3-10	10ml	室温
	TR1059-3-50	50m	
游离RNA结合液	TR1059-4-20	20ml	室温
	TR1059-4-100	100ml	
RNA回收液	TR1070-1-2	2ml	室温
	TR1070-1-10	10ml	
RNA洗涤液1	TR1059-5-10	10ml	室温
	TR1059-5-50	50m	
RNA洗涤液2	TR1003-3-3	3ml	室温
	TR1003-3-12	12ml	
无DNase/RNase水	TW1001-1	1ml	室温
	TW1001-4	4ml	
1号C纯化柱	TC1004-10	10个	室温
	TC1004-50	50个	
25ml漏斗	TC1039-10	10个	室温
	TC1039-25	25个	
3号Y纯化柱(黄)	TC1006-10-F	10个	室温
	TC1006-50-F	50个	
2ml 收集管	TC1001-50	50个	