

快速RNA小量提取试剂盒

(使用说明书 Ver.1.2.0)

产品说明

- ◇ 适用于从细胞、组织、酵母菌、植物或者细菌中提取到总RNA(含microRNA)。
- ◇ 提取到的RNA不含DNA,并可应用于Q-PCR,高通量测序等实验。
- ◇ 此产品仅供科研使用。

产品货号:

TR154 -10 (10次反应 无DNaseI) TR154 -50 (50次反应 无DNaseI)

TR154 -200 (200次反应 无DNaseI) TR154 -D-10 (10次反应 含DNaseI)

TR154 -D-50 (50次反应 含DNaseI) TR154 -D-200 (200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
产品特性	1
溶液制备	1
操作步骤	2
I) 样品裂解匀浆	2
II) 样品处理	2
III) 样品纯化	2
组件查询	4

产品组份

试剂盒组成	TR154 -10	TR154 -50	TR154 -200	TR154 -D-10	TR154 -D-50	TR154 -D-200	保存
RNA 裂解液	10 ml	50 ml	2*100 ml	10 ml	50 ml	2*100 ml	室温
RNA 预洗液	5 ml	25 ml	100ml	5 ml	25 ml	100ml	室温
RNA 洗涤液 (未添加乙醇)	5ml	24ml	2*48ml	5ml	24ml	2*48ml	室温
第一次使用前按说明加指定量乙醇							
无 DNase/RNase 水	2 ml	6 ml	30ml	2 ml	6 ml	30ml	室温
DNase I	-	-	-	50U*1	250U*1	250U*4	-20°C
DNA消化液	-	-	-	1 ml	4 ml	16ml	室温
3号CG纯化柱(绿)	10 个	50 个	200个	10 个	50 个	200个	室温
3号Y纯化柱(黄)	10 个	50 个	200个	10 个	50 个	200个	室温
2ml收集管	20 个	100 个	400 个	20 个	100 个	400 个	室温

产品特性

- ◇ 样品来源：细胞、组织、酵母、植物或者细菌，兼容各种保护剂。
- ◇ 样品范围：最多 10^7 细胞或50mg的组织。
- ◇ RNA纯度：高质量的RNA可应用于高通量测序等敏感的下游实验。
- ◇ RNA回收率：可从30 μ l洗脱体积中回收到100 μ g的RNA。

溶液制备

- ◇ RNA洗涤液在使用之前一定要配好，添加好乙醇后在试瓶上做好标记!
- ◇ 需要添加96ml100%的乙醇（或104ml 95%乙醇）到24ml的RNA洗涤液中。
- ◇ 需要添加192ml100%的乙醇（或208ml 95%乙醇）到48ml的RNA洗涤液中。
- ◇ 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DNase I需要添加275 μ l的无DNase/RNase水。

操作步骤:

整个操作步骤是由3个步骤组成：I) 样品裂解匀浆； II) 样品处理； III) 样品纯化。 所有步骤均在室温下操作（20-30°C）。

I) 样品裂解匀浆

RNA裂解液用量	300µl	600µl
细胞	< 5x10 ⁶	>5x10 ⁶
组织	< 20mg	≤50mg

◇ 贴壁细胞

去除液体培养基后，直接往培养板中加入RNA裂解液溶解细胞，并用移液枪轻轻吹打混匀。依据细胞的数量来决定所需的RNA裂解液量。

◇ 悬浮细胞

离心沉淀细胞（≤500xg），完全去除上清后用RNA裂解液重悬细胞沉淀。可短暂涡旋振荡。

◇ 其他组织

其他难裂解的组织、酵母、植物匀浆需要配合蛋白酶K和裂解珠（选配）。

◇ DNA/RNA保护剂中的组织

将添加了DNA/RNA保护剂的匀浆样品放到室温下，添加1体积的RNA裂解、混匀，然后进行样品清理步骤。

II) 样品处理与基因组DNA去除

此步骤主要是针对动植物组织和细胞，对于样品量很低（细胞数≤10⁵）或无细胞的液体样本则无需此步。

1. 将上述匀浆裂解物在离心力≥10,000xg下离心 1分钟。
2. 将上清移至 3号 Y纯化柱,纯化柱套在一个收集管内,在离心力≥10,000xg下离心1分钟去除 DNA。保存滤出液用于 RNA纯化。

III) 样品纯化

以下离心力均在10,000-16,000xg范围内进行。

1. 加入等体积（95-100%）的无水乙醇到上一步含有 RNA裂解液的上清中混匀。
2. 将上述混合物放入套在收集管上的3号CG纯化柱里，离心1分钟。去除滤出液。
3. 柱上DNase I消化处理（可选）

此步骤主要是为了去除痕量的 DNA。

- a) 添加 400µl的 RNA洗涤液到 3号CG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 DNase I反应液。配比为 DNase I，5µl；DNA消化液，75µl。
 - c) 直接添加 80µl的DNase I反应液到3号CG纯化柱上，在室温下（20-30°C）孵育 15分钟。
4. 添加 400µl的 RNA预洗液到3号CG纯化柱里，离心 1分钟。去除滤出液。
 5. 添加 700µl的 RNA洗涤液到3号CG纯化柱里，离心 1分钟。去除滤出液。
 6. 添加 400µl的 RNA洗涤液到3号CG纯化柱里，离心 2分钟以去除残留的乙醇，以免抑制下游反应。

- 取出3号CG纯化柱，放入一个无 RNA酶的离心管中，在吸附膜的中间部位加 100μl 无 DNase/RNase水, 室温放置 2分钟，离心1分钟洗脱 RNA。

小RNA (17-200nt) 与大RNA (> 200nt) 片段的分别纯化

- 将等体积的裂解液与乙醇 1 : 1混合，制备出 RNA裂解缓冲液。
(示例：将 50μl的裂解液与 50μl的乙醇混匀)
- 添加 2倍的裂解缓冲液到样品中并混匀。
(示例：将 100μl的裂解缓冲液添加到 50μl的样品中混匀)
- 将上述混合液转移到 3号 CG纯化柱中并离心，留取滤出液。

纯化小片段RNA

- 加入一倍体积的乙醇与滤出液混匀。
(示例：向150μl样品中添加150μl乙醇)
- 将混合液转移到新的3号 CG纯化柱中并离心，弃掉废液。
- 添加 400μl的 RNA预洗液到3号CG纯化柱里，离心 1分钟。去除滤出液体。
- 添加 700μl的 RNA洗涤液到3号CG纯化柱里，离心 1分钟。去除滤出液。
- 添加 400μl的 RNA洗涤液到3号CG纯化柱里，离心 2分钟以去除残留的乙醇，以免抑制下游反应。
- 取出3号CG纯化柱，放入一个无 RNA酶的离心管中，在吸附膜的中间部位加 15μl 无 DNase/RNase水, 室温放置 2分钟，离心 1分钟洗脱 RNA。浓度可以提高为 26μl洗脱。

纯化大片段RNA (> 200nt)

大片段RNA (> 200nt) 保留在柱子上面，参考上述c至f步骤 完成后续步骤
(大片段RNA已经保留在纯化柱上了，直接后续洗涤洗脱即可)

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	室温
	TR1060-1-100	100ml	室温
RNA 预洗液	TR1060-2-5	5ml	室温
	TR1060-2-25	25ml	室温

	TR1060-2-100	100ml	室温
RNA洗涤液 (未添加乙醇)	TR1003-3-5	5ml	室温
	TR1003-3-24	24ml	室温
	TR1003-3-48	48ml	室温
无DNase/RNase水	TW1001-2	2ml	室温
	TW1001-6	6ml	室温
	TW1001-30	30ml	室温
DNase I	TE1009-A-S	50U	-20°C
	TE1009-A	250U	-20°C
DNA消化液	TE1010-1-1	1ml	室温
	TE1010-1-4	4ml	室温
	TE1010-1-16	16ml	室温
3号CG纯化柱(绿)	TC1006-10-G	10个	室温
	TC1006-50-G	50个	室温
3号Y纯化柱(黄)	TC1006-10-F	10个	室温
	TC1006-50-F	50个	室温
2ml收集管	TC1001-20	20个	室温
	TC1001-50	50个	室温
	TC1001-200	200个	室温