

快速RNA微量提取试剂盒

(使用说明书 Ver.1.1.1)

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)。
- ◇ 可从少至1个细胞中提取到microRNA, 提取到的RNA不含DNA, 并可应用于Q-PCR, 高通量测序等实验。

产品货号:

TR150 -10 (10次反应 无DNaseI) TR150 -50 (50次反应 无DNaseI)

TR150 -200 (200次反应 无DNaseI) TR150 -D-10 (10次反应 含DNaseI)

TR150 -D-50 (50次反应 含DNaseI) TR150-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
注意事项	1
产品特性	1
产品描述	2
溶液制备	3
操作步骤	3
I) 样品前处理	3
II) RNA纯化	4
附录	5
FAQ常见问题及解决方法	6
平均RNA的产量是多少?	7
其他产品订购信息	7
组件查询	9

产品组份

试剂盒组成	TR150 -10	TR150 -50	TR150 -200	TR150 -D-10	TR150 -D-50	TR150 -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	5 ml	20ml	2 ml	5 ml	20ml	室温
DNase I	-	-	-	50U*1	250U*1	250U*4	-20°C
DNA消化液	-	-	-	1 ml	4 ml	16ml	室温
1号C纯化柱	10 个	50 个	200个	10 个	50 个	200个	室温
2ml收集管	10 个	50个	200 个	10 个	50个	200 个	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。
- ◇ RNA提取，防RNase污染。
 1. 更换新手套。皮肤表层附着微生物，可能导致RNase污染。
 2. 使用无RNase的塑料制品和枪头，避免交叉污染。
 3. 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4 h；塑料器皿可在0.5 M NaOH中浸泡10 min，用水彻底清洗。灭菌后，即可去除RNase。
 4. 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

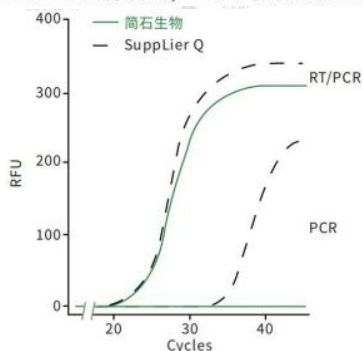
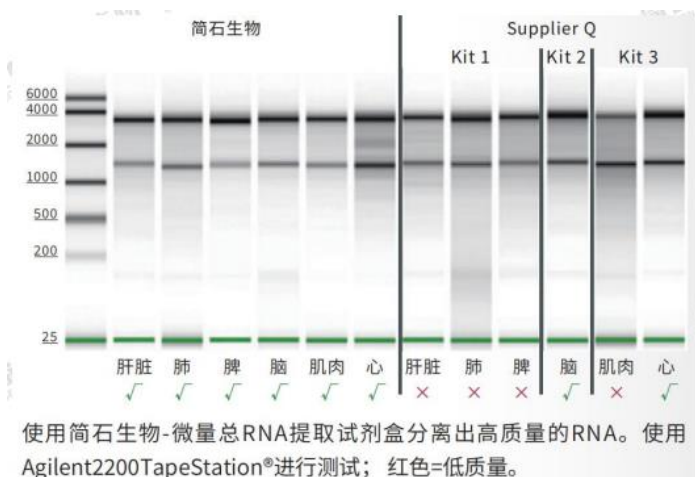
- ◇ 样品来源 - 细胞(动物、革兰氏阴性菌)、易于裂解的软组织样品、存储在DNA/RNASHield™或其他保存试剂中的样品以及酶反应(例如，DNase I处理、蛋白酶K处理)。不适用于全血1和尿液1样品。
- ◇ 大小 - 总RNA，包括small/microRNA (≥ 17 nt)。
- ◇ 纯度 - A260/A280和A260/A230 > 1.8。RNA已准备好进行下一代测序、RT/qPCR等。可以通过DNaseI消化去除痕量DNA。
- ◇ 结合能力 - I号C柱可产生高达10 μg RNA的回收。

- ◇ 兼容性 - 对于存储在保存试剂中的样品：DNA/RNA Shield™、RNAprotect®、Allprotect®、通用运输介质/病毒运输介质(UTM®/VTM®)和RNAlater™。
- ◇ 洗脱体积 - $\geq 6 \mu\text{l}$ 无DNase/RNase水。
- ◇ 所需设备 (用户提供) - 微量离心机、涡旋混合器。

产品描述

微量总RNA提取试剂盒是一种提取高质量总RNA ($\geq 17 \text{ nt}$) 的快速方法, 适用于细胞 (动物、颊黏膜、白细胞, 革兰氏阴性细菌) 和易于裂解的软组织。可以将small RNA (例如17-200 nt的tRNA、microRNA) 和/或large RNA ($> 200 \text{ nt}$) 分离为两个不同的部分。

该过程使用独特的核酸纯化柱技术, 可得到高质量的总RNA (包括小/microRNA), 可用于NGS、RT/qPCR、杂交等应用。



与供应商Q试剂盒相比, 使用简石生物-微量总RNA提取试剂盒分离的RNA不含基因组污染。从 10^6 个人类上皮细胞中分离总RNA (两种试剂盒均采用柱内DNA酶处理, $n=3$)。

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96ml 100%的乙醇(或104ml 95% 乙醇)到24ml的RNA洗涤液中。
 需要添加192ml 100%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DNase I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:

RNA的分离包括两个步骤: (I)样品前处理 (样品裂解/均质化) ; (II) RNA纯化
 注意: 确保RNA提取过程是在一个无RNase的环境中。

(I)样品前处理

1. 样品裂解/匀浆

样品种类		样品量	需添加量 TRIzol	(I)样品前处理 (样品裂解/匀浆)
细胞	悬浮动物细胞培养	$\leq 10^5$ 细胞	$\geq 100\mu\text{l}$	离心沉淀细胞 / 直接在培养皿中裂解 方案1: 离心细胞悬液, 以 $\leq 500 \times g$ 的离心速度离心1分钟, 去除上清后用适量RNA裂解液反复吹打来重悬裂解细胞。 方案2: 单层贴壁细胞, 可在培养皿中直接裂解。每1cm ² 培养表面积加入100 μl RNA裂解液。(容器体积 $\leq 6\text{cm}^2$) 室温放置3min 注意: 贴壁培养细胞通常不能完全从培养瓶(皿)脱落, 这并不意味裂解不完全, 此时细胞膜已完全破裂开, 核酸已释放。。
	贴壁动物细胞培养	$\leq 10^6$ 细胞	$\geq 300\mu\text{l}$	
		$\leq 5 \times 10^6$	$\geq 600\mu\text{l}$	
革兰氏(-)菌	$\leq 10^8$	$\geq 600\mu\text{l}$		
组织	哺乳动物	$\leq 5 \text{ mg}$	$\leq 600\mu\text{l}$	液氮研磨 / 样品破碎仪 (垂直震荡低温款) 方案1: 将组织在液氮里迅速研磨成粉末, 再添加600 μl RNA裂解液, 室温放置3-5min 方案2: 添加600 μl RNA裂解液, 配合样品破碎仪 (垂直震荡低温款)+裂解珠(2.0 mm), 机器处理程序如下: 动物组织: (60Hz, 45s/周期 $\times 1$) 植物/昆虫: (60Hz, 45-60s/周期 $\times 2$)
	动植物, 新鲜/冷冻样品	植物/种子/昆虫	$\leq 5 \text{ mg}$	
微生物	细菌/酵母/粪便/土壤	$\leq 10^6$	$\geq 600\mu\text{l}$	样品均质化 ("8" 字旋转低温款) +裂解珠(0.5 mm $\&$ 0.1 mm) 机器处理程序: (6m/s, 30s/周期 $\times 2$)

液体样品	血浆/血清 /白细胞/ 脑脊液等	≤200μl	600μl	液体样品中加入3倍体积的RNA裂解液，混合均匀室温放置3min
难裂解的样品	组织/酵母 /植物等			可以使用液氮研磨 / 研磨仪（垂直或“8”字低温款） 配合蛋白酶K和裂解珠（不同样品选配）并在RNA裂解液中添加一定浓度的β-巯基乙醇。
DNA/RNA 保护剂 (EZShied®)	保存在其 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™	保存在其 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。

2. 样品裂解匀浆完成后，需要去除沉淀物

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 $\leq 10^5$)则无需此步。

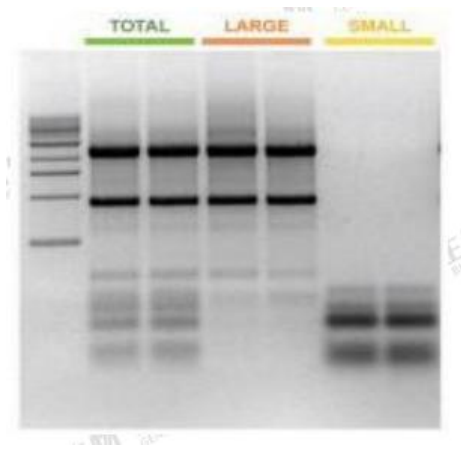
上述匀浆裂解后的混合物放置在合适容器中，离心1分钟（离心力 $\geq 12,000g$ ），将上清移至干净的离心管中。（注意：移液过程避免吸取到底部杂质）

(II) RNA纯化

以下离心力均在10,000-16,000xg范围内进行。

- 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。
- 将上述混合物放入套在收集管上的1号C纯化柱里，离心1分钟。去除滤出液。
- 柱上DNase I消化处理（可选）此步骤主要是为了去除痕量的DNA。
 - 添加400μl的RNA洗涤液到1号C纯化柱里离心1分钟，去除滤出液。
 - 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。
 - 直接添加40μl的DNase I反应液到1号C纯化柱上，在室温下(20-30°C)孵育15分钟
- 添加400μl的RNA预洗液到1号C纯化柱里，离心1分钟。去除滤出液。
- 添加700μl的RNA洗涤液到1号C纯化柱里，离心1分钟。去除滤出液。
- 添加400μl的RNA洗涤液到1号C纯化柱里，离心2分钟。去除滤出液。
- 空转2分钟以去除残留的乙醇，以免抑制下游反应。
- 取出1号C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（事先在65-70°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。
得到的超纯 RNA 可进行后续试验了！

附录：不同片段的RNA回收步骤：



总RNA (>17 nt)
 large RNA (>200 nt)
 Small RNA (17-200nt)

使用Quick-RNA系列的产品, 可以有效地分离和纯化不同片段大小的RNA

√该步骤适用于动物细胞输入量 (≤106) 或仅纯化RNA。

√在室温下进行所有步骤, 离心步骤为10,000-16,000 x g, 除非另有说明。

1. 首先需要制备RNA裂解液与 (95-100%) 无水乙醇的等体积混合物。
(例如: 50μl的RNA裂解液和50μl的无水乙醇混匀)
2. 添加2倍体积的上述混合物到样品中混匀。(例如: 添加100μl的混合物到50μl的样品中混匀。)
3. 将上述混合物放入套在收集管上的1号C柱里, 离心1分钟。不要倒掉滤出液
- 4.

17nt-200nt之间的RNA在滤出液中	>200nt的RNA保存在纯化柱上
a. 添加1体积的无水乙醇并且混匀(例如: 添加150 μl的无水乙醇到150μl的上述滤出液中) b. 将混合物转移到一个新的纯化柱里, 并将纯化柱套在一个收集管上, 并且离心1分钟, 去除滤出液。 c. 进行纯化, 第5页第4步开始进行后续操作	a. 进行纯化, 第5页第4步开始进行后续操作。

注意: 为了最大限度地减少移液误差, 将样品体积调整至50μl (最小值)。如果要处理>700μl的样品, 可重复过纯化柱。

FAQ常见问题及解决方法

Q: 问题	A.: 可能的原因和推荐的解决方案
-------	-------------------

是否需要DNase I处理； 溶解后的DNase I如何保存	<p>1. 简石生物提供的 DNase I套件 (DNase 和 DNA 消化缓冲液) 的目录号是 TE1010；</p> <p>如果下游应用需要无DNA的RNA，我们建议柱上做DNase I处理，后续洗涤可去除片段化的DNA，避免浓度高。</p> <p>2. 冻干DNase I在室温下比较稳定。液体悬浮后，可选择冷冻储存(-20℃) 等分试样。尽可能减少冻融循环。冻融会降低酶活性。</p>
小量总RNA提取试剂盒 (从TRIzol®裂解物中提取) 和 小量总RNA提取试剂盒有什么区别？	<p>总RNA快速提取试剂盒 (从TRIzol®裂解物中提取)</p> <p>直接用于储存/收集到TRIzol®/TRIcom类似试剂中的样品。</p> <p>小量总RNA提取试剂盒 适用于所有其他样品，</p>
样品可以在处理前，可以储存在RNA裂解液里吗？	<p>可以，RNA裂解液中的样品在室温下过夜是稳定的，并且可以冷冻储存(-80℃)。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>
RNA洗涤液用完了，可以使用其他溶液替代吗？	<p>使用80%乙醇作为替代品。RNA洗涤缓冲液也单独出售。</p>
如何提高纯度，RIN值并消除污染？ (及A _{260/230} , A _{260/280} 比率, DNA, 苯酚, 蛋白质, 盐等)	<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。</p> <p>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>
如何提高RNA产量？	<p>1. 确保完全裂解，增加裂解试剂的体积 (即增加 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 (EZShield®) (TR110) 中进行酶处理 (蛋白酶K) /或机械匀浆 (使用对应不同样品的珠裂解管+破碎仪处理)</p>

平均RNA的产量是多少？

样品	平均核糖核酸产量	试剂盒最大上样量
细胞	1 µg (每10 ⁵ 个细胞)	最多10 ⁶
Hela	1.5µg	
高产组织 ¹ (小鼠)	≥ 3 µg (每1mg)	最多2mg
脾脏	3-5 µg	
肝脏	4-6 µg	
低产组织 ¹ (小鼠)	≤ 3 µg (每1mg)	最多5mg
肌肉	0.5-2 µg	

肺	1-2 µg
大脑、心脏	0.5-1.5 µg
肠道	1-3 µg
肾脏	2-3 µg

全血 ²	(每100µl)	最多200µl
猪	1-2 µg	
人类	0.2-1 µg	

1. 组织的产量可能会因其他因素而有所变化 (例如, 生物类型、生理状态和生长条件)
2. 血液的产量可能会因采集、样品制备、供体、年龄和/或健康状况而有所变化。

其他产品订购信息

DNA/RNA保护剂 (EZShield®)		
TR110	DNA/RNA保护剂 (EZShield®) -固体样品保护剂	瓶
TR120	DNA/RNA保护剂 (EZShield®) -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		
总RNA快速提取试剂盒 (从TRizo®裂解物中提取)		
TR199	LS液体样本总RNA提取试剂 (TRlcom Reagent)	50/100ml
TR201	总RNA提取试剂 (TRlcom Reagent)	50/100ml
TR205	少量总RNA提取试剂盒-50	50/200次

TR206	微量总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
小量总RNA提取试剂盒 (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/RNA保护剂 (EZShied [®]))	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	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
	TW1001-5	5ml	室温

	TW1001-20	20ml	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
1号C纯化柱	TC1004-10	10个	室温
	TC1004-50	50个	室温
	TC1004-200	200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