

# RNA纯化浓缩试剂盒

(使用说明书 Ver.1.0.0)

## 产品特点

- ◇ RNA 纯化浓缩试剂盒提供了一种简单可靠的方法，可快速制备高达 50 $\mu$ g 的高质量、适用于二代测序 (NGS) 的 RNA。整个过程只需 5 分钟，基于独特的单缓冲液系统和特有的纯化柱技术，能够选择性回收总 RNA (>17nt)、长片段 RNA (>200nt) / small RNA (17 - 200nt)
- ◇ 操作步骤简单：向样本中加入结合液和乙醇，然后进行结合、洗涤和洗脱，即可得到超纯 RNA。RNA 可从纯化柱中用低至 $\geq 25\mu$ l 的无 RNase 水洗脱。高度浓缩、纯化的 RNA 适用于所有后续分析和分子操作实验。

产品货号：

TR1017 TR1018



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
操作步骤	2
◇ 缓冲液制备	2
◇ 总RNA纯化	2
附录	2
◇ DNase I 处理	2
◇ RNA 纯化前进行 DNase I 处理 (推荐方法)	2
◇ 柱内 DNase I 处理	2
◇ 长片段与小 RNA 的分别纯化	3
◇ 从 TRIzol®/ 氯仿提取后的水相纯化 RNA	4
◇ 从 DNA/RNA Shield™样本中纯化 RNA	4
◇ 逆转录 (RT) 后的 cDNA 纯化	4
组件查询	5

## 产品组份

试剂盒组成	TR1017 (50 次制备)	TR1018 (100 次制备)	保存
RNA结合液	25ml	50ml	室温
RNA 预洗液	25ml	25ml×2	室温
RNA 洗涤液 (未添加乙醇)	12ml	24ml	室温
无 DNase/RNase 水	6ml	10ml	室温
2号 CR 纯化柱	50个	50个×2	室温

## 注意事项

- ✧ 售出后一年内产品质量可以保证。试剂已经过大量的常规检测来保证其可操作性。
- ✧ 此产品仅供研究并需要由专业人员来使用。试剂盒中的部分试剂是有刺激性的。请带好手套和防护眼镜。
- ✧ 使用前注意：向 12ml RNA 洗涤液 (TR1017) 中加入 48ml 100% 乙醇 (或 52ml 95% 乙醇)；向 24ml RNA 洗涤液 (TR1018) 中加入 96ml 100% 乙醇 (或 104ml 95% 乙醇)。

## 产品特性

- ✧ 样本来源：酶促反应 (如经 DNase I 处理的 RNA)、TRIzol/ 氯仿或类似试剂提取后的水相、体外转录产物等。
- ✧ RNA 大小：总 RNA，包括 small RNA / micro RNA ( $\geq 17$ nt)。
- ✧ 纯度：A260/A280 及 A260/A230  $> 1.8$ 。纯化后的 RNA 可直接用于二代测序、逆转录 RT-qPCR 等实验
- ✧ 结合能力：每个纯化柱可结合 50 $\mu$ g 总 RNA。
- ✧ 洗脱体积： $\geq 25\mu$ l 无 DNase/RNase 水。
- ✧ 所需设备 (用户自备)：微量离心机。
- ✧ 化学耐受性： $\leq 5\%$  Triton X-100、 $\leq 5\%$  Tween-20、 $\leq 5\%$  Sarkosyl、 $\leq 0.1\%$  SDS。也兼容  $\leq 90\%$  蔗糖、 $\leq 90\%$  甲酰胺和  $\leq 2\%$  甲醛。
- ✧ 注：类似试剂包括 TRI Reagent<sup>®</sup>、RNAzol<sup>®</sup>、QIAzol<sup>®</sup>、TriPure<sup>™</sup>、TriSure<sup>™</sup>等所有酸性胍盐 - 酚类试剂。

## 操作步骤

实验步骤包括：(I) 缓冲液制备、(II) 总 RNA 纯化。

### (I) 缓冲液制备：

向 12ml RNA 洗涤液 (TR1017) 中加入 48ml 100% 乙醇 (或 52ml 95% 乙醇)；向 24ml RNA 洗涤液 (TR1018) 中加入 96ml 100% 乙醇 (或 104ml 95% 乙醇)。

### (II) 总 RNA 纯化：

可回收  $\geq 17$ nt 的 RNA。除非另有说明，所有步骤均需在室温下进行，离心条件为 10,000 - 16,000 $\times$ g，离心 30 秒。若需获得无 DNA 的 RNA (可选步骤)，建议在纯化前或纯化过程中进行 DNase I 处理。

1. 向每个样本中加入 2 倍体积的 RNA 结合液并混合。例如，将 100 $\mu$ l RNA 结合液与 50 $\mu$ l 样本混合。
2. 加入等体积的乙醇 (95 - 100%) 并混合。例如，加入 150 $\mu$ l 乙醇。
3. 将样本转移到放置在收集管中的 纯化柱中并离心，丢弃滤液。此步骤可选择进行柱内 DNase I 处理。
4. 向纯化柱中加入 400 $\mu$ l RNA 预洗液并离心，丢弃滤液。
5. 向纯化柱中加入 700 $\mu$ l RNA 洗涤液并离心，丢弃滤液。
6. 向纯化柱中加入 400 $\mu$ l RNA 洗涤液，离心 1 分钟，确保完全去除洗涤液。小心地将纯化柱转移到无 RNase 的管子 (未提供) 中。
7. 向纯化柱基质中直接加入 50 $\mu$ l 无 DNase/RNase 水并离心。或者，若需获得高浓度 RNA，洗脱体积可  $\geq 25\mu$ l。洗脱的 RNA 可立即使用或冷冻保存。

## 附录

### DNase I 处理

- ✧ 若要获得无 DNA 的 RNA，可使用 DNase I Set (TE1010; 50 次反应) 和 RNA 洗涤液 (TR1003 - 3 - 6) 进行 DNase I 处理，这些材料需单独购买。
- ✧ 除非另有说明，所有步骤均在室温下进行，离心条件为 10,000 - 16,000 $\times$ g，离心 30 秒。

### RNA 纯化前进行 DNase I 处理 (推荐方法)：

- ✧ 在无 RNase 的管子 (未提供) 中，为每个待处理样本制备 50 $\mu$ l DNase I 反应混合液，轻轻颠倒混匀。然后在室温 (20 - 30 $^{\circ}$ C) 孵育 15 分钟，接着进行 RNA 纯化实验步骤。
- ✧ DNase I 反应混合液配方：RNA 样本 ( $\leq 10\mu$ g；体积用水或 TE 缓冲液调整) 40 $\mu$ l、DNase I (复溶后；1U/ $\mu$ l) 5 $\mu$ l、DNA 消化缓冲液 5 $\mu$ l。

### 柱内 DNase I 处理：

1. 完成 RNA 结合步骤 (既实验步骤第3步) 后，向纯化柱中加入 400 $\mu$ l RNA 洗涤液，离心并弃去流出液。

2. 在无 RNase 的管子 (未提供) 中, 为每个待处理样本制备 DNase I 反应混合液 (DNase I 5 $\mu$ l、DNA 消化缓冲液 75 $\mu$ l), 轻轻颠倒混匀。然后将 80 $\mu$ l 反应混合液直接加入纯化柱基质中, 在室温 (20 - 30 $^{\circ}$ C) 孵育 15 分钟。接着进行 RNA 纯化实验步骤。

注: 复溶方法---将冻干的 DNase I (TE1009 - A; 250U) 用 275 $\mu$ l 无 DNase/RNase 水复溶, 轻轻颠倒混匀, 保存冷冻分装液。

## 长片段与小 RNA 的分别纯化

除非另有说明, 所有步骤均在室温下进行, 离心条件为 10,000 - 16,000 $\times$ g, 离心 30 秒。每次制备需要两个纯化柱。

1. 按需制备调整后的 RNA 结合液, 将等体积的结合液和乙醇 (95 - 100%) 混合。例如, 将 50 $\mu$ l 结合液和 50 $\mu$ l 乙醇混合。
2. 向样本中加入 2 倍体积的步骤1中配置好的缓冲液并混合。例如, 将 100 $\mu$ l 调整后缓冲液与 50 $\mu$ l 样本混合。
3. 将混合物转移到纯化柱中并离心, 保留流出液! 此时, 长片段 RNA (>200nt) 保留在纯化柱中, 小 RNA (17 - 200nt) 在滤出液中。

### RNA (>200nt) :

继续 RNA 纯化实验步骤的步骤 4及后续步骤。

(即下图中的操作)

- 4.向纯化柱中加入 400 $\mu$ l RNA 预洗液并离心, 丢弃滤液。
- 5.向纯化柱中加入 700 $\mu$ l RNA 洗涤液并离心, 丢弃滤液。
- 6.向纯化柱中加入 400 $\mu$ l RNA 洗涤液, 离心 1 分钟, 确保完全去除洗涤液。小心地将纯化柱转移到无 RNase 的管子 (未提供) 中。
7. 向纯化柱基质中直接加入 50 $\mu$ l 无 DNase/RNase 水并离心。或者, 若需获得高浓度 RNA, 洗脱体积可 $\geq$ 25 $\mu$ l。洗脱的 RNA 可立即使用或冷冻保存。

### 小 RNA (17 - 200nt) :

- a. 向流出液中加入 1 倍体积乙醇并混合, 例如, 向 150 $\mu$ l 样本中加入 150 $\mu$ l 乙醇。
- b. 将混合物转移到新的纯化柱中并离心, 丢弃滤液。
- c. 继续进行 RNA 纯化实验步骤的步骤 4 及后续步骤。(即下图中的操作)

- 4.向纯化柱中加入 400 $\mu$ l RNA 预洗液并离心, 丢弃滤液。
- 5.向纯化柱中加入 700 $\mu$ l RNA 洗涤液并离心, 丢弃滤液。
- 6.向纯化柱中加入 400 $\mu$ l RNA 洗涤液, 离心 1 分钟, 确保完全去除洗涤液。小心地将纯化柱转移到无 RNase 的管子 (未提供) 中。
- 7.向纯化柱基质中直接加入 50 $\mu$ l 无 DNase/RNase 水并离心。或者, 若需获得高浓度 RNA, 洗脱体积可 $\geq$ 25 $\mu$ l。洗脱的 RNA 可立即使用或冷冻保存。

### 从 TRIzol®/ 氯仿提取后的水相纯化 RNA:

经 TRIzol®/ 氯仿或类似试剂提取后，小心地将上层水相转移到无 RNase 的管子（未提供）中。向 1 体积水相中加入 1 体积乙醇（95 - 100%）（1:1），充分混合。然后进行 RNA 纯化实验步骤的步骤 3 及后续步骤。（即下图中的操作）

- 3.将样本转移到放置在收集管中的 纯化柱中并离心，丢弃滤液。此步骤可选择进行柱内 DNase I 处理。
- 4.向纯化柱中加入 400µl RNA 预洗液并离心，丢弃滤液。
- 5.向纯化柱中加入 700µl RNA 洗涤液并离心，丢弃滤液。
- 6.向纯化柱中加入 400µl RNA 洗涤液，离心 1 分钟，确保完全去除洗涤液。小心地将纯化柱转移到无 RNase 的管子（未提供）中。
- 7.向纯化柱基质中直接加入 50µl 无 DNase/RNase 水并离心。或者，若需获得高浓度 RNA，洗脱体积可 $\geq$ 25µl。洗脱的 RNA 可立即使用或冷冻保存。

### 从 DNA/RNA Shield™样本中纯化 RNA:

除非另有说明，所有步骤均在室温下进行，离心条件为 10,000 - 16,000 $\times$ g，离心 30 秒。若样本冷冻，需在室温（20 - 30°C）解冻并离心去除杂质（如有），将澄清的样本转移到无 RNase 的管子（未提供）中。向 1 体积 DNA/RNA Shield™样本中加入 1 体积乙醇（95 - 100%）并充分混合。例如，50µl 缓冲液与 50µl 样本混合。继续进行 RNA 纯化实验步骤的步骤 3 及后续步骤。（即下图中的操作）

- 3.将样本转移到放置在收集管中的 纯化柱中并离心，丢弃滤液。此步骤可选择进行柱内 DNase I 处理。
- 4.向纯化柱中加入 400µl RNA 预洗液并离心，丢弃滤液。
- 5.向纯化柱中加入 700µl RNA 洗涤液并离心，丢弃滤液。
- 6.向纯化柱中加入 400µl RNA 洗涤液，离心 1 分钟，确保完全去除洗涤液。小心地将纯化柱转移到无 RNase 的管子（未提供）中。
- 7.向纯化柱基质中直接加入 50µl 无 DNase/RNase 水并离心。或者，若需获得高浓度 RNA，洗脱体积可 $\geq$ 25µl。洗脱的 RNA 可立即使用或冷冻保存。

### 逆转录 (RT) 后的 cDNA 纯化:

RNA 纯化浓缩试剂盒可有效纯化和浓缩逆转录 (RT) 及水解后的第一链 cDNA。RNA 结合液可中和水解反应，回收的 cDNA 可直接用于微阵列分析等实验。水解反应：向每个 30 - 50µl RT 反应液中加入 10µl 0.5M EDTA 和 10µl 1M NaOH，混合后在 65°C 孵育 15 分钟，然后进行总 RNA 纯化实验步骤。

## 组件查询

组件名称	货号	规格	储存条件
RNA结合液	TR1013-2-25	25ml	室温
	TR1013-2-50	50ml	
RNA 预洗液	TR1060-2-25	25ml	室温
RNA 洗涤液 (未添加乙醇)	TR1003-3-12	12ml	室温
	TR1003-3-24	24ml	
无 DNase/RNase 水	TW1001-6	6ml	室温
	TW1001-10	10ml	
2号 CR 纯化柱	TC1078-50	50个	室温