

Micro RNA纯化试剂盒（预分装）

（使用说明书 Ver.1.1.4）

产品说明

- ◇ 适用于从各种裂解液反应提取，酶反应，相分离（添加完TRIZOL之后），提取好的总RNA中纯化和浓缩Total RNA($\geq 17nt$) \ Large RNA ($> 200nt$) \ Micro RNA (17~200nt)。
- ◇ $\geq 35\mu l$ 的洗脱体积可以回收浓缩得到高质量的 RNA, 得到的 RNA 可应用于逆转录，芯片，NGS等实验。
- ◇ 使用全自动化提取仪及手动操作两个方向。
- ◇ 自动化的纯化过程节约实验成本，并能保证高质量的Micro RNA，高纯化回收率及纯度，结合杂片段极少，更适合下游转录及测序等实验。

产品货号：

TB113-32-kf TB113-96-kf



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
全自动纯化步骤及程序设置 (参考)	3
组件查询	6

产品组份

试剂盒组成	TB113-32-kf	TB113-96-kf	保存
RNA结合液	5ml	10ml	室温
RNA预洗液	25ml	50ml	室温
RNA洗涤液 (未添加乙醇)	12ml	24ml	室温
	第一次使用前按说明加指定量乙醇		
磁珠	1ml	2ml	室温
DNA消化液	1ml	2ml	室温
DNase I	250U	250U	-20°C
无DNase/RNase水	5ml	5 ml	室温
96孔深孔板V底2.2ml	2个	6个	室温

注意事项

- ✧ 简石生物各类产品仅供研究使用，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。
- ✧ RNA纯化过程，防RNase污染。
- ✧ 勤更换手套。皮肤表层附着，微生物内源性酶携带，气溶胶污染，会导致RNase污染。
- ✧ 使用无RNase的塑料制品和枪头，避免交叉污染，应用的各类耗材，尽量高温高压灭菌；
- ✧ 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。
- ✧ 配制溶液应使用无DNase I / 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：适用于从各种裂解液反应，酶反应，有机相分离（添加完TRIZOL之后），提取好的Total RNA中纯化和浓缩RNA，分离Micro RNA
- ✧ 大小：总RNA,包括small/micro RNA (~17 nt≤200nt) ， Large RNA (≥200nt)。
- ✧ 纯度：A260/A280和A260/A230 > 1.8，适用于下游测序，RT-qPCR等。
- ✧ 洗脱体积：≥35μl 无DNase/RNase水
- ✧ 所需设备（用户提供）：微型量离心机，全自动纯化提取仪，高质量磁力架。

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！**

- ✧ 添加 48ml 无水乙醇到 12ml 的 RNA 洗涤液中。
- ✧ 添加 96ml 无水乙醇到 24ml 的 RNA 洗涤液中。
- ✧ DNase I 在使用之前添加 275 μ l 试剂盒自带的 无DNase/RNase水 配成溶液。

操作步骤

RNA 纯化之前，以下为DNA残留处理过程（选做）：

a) 准备干净的无DNase I / RNase 管，混合50 μ l的样本与DNase I 混合体系（体系配比如下表）

RNA sample ($\leq 10\mu\text{g}$ 总 分子量, 样本体积如不足50 μ l可用无酶水或1 X TE定容)	50 μ l
DNase I (活力值: 干粉DNA酶, 每250U溶解于~275 μ l 无酶水当中, 浓度为1U/ μ l) 注: 物种不同, 所含基因组DNA分子量有差异, 保守值约每1 μ l 上述 DNase I 酶可消化掉5 μg \leq 分子量的基因组DNA, 酶的使用量及条件应适当摸索, 当DNA消化不完全时, 可增大DNase I 的使用量, 组件当中的酶当量为250U。	1 μ l
DNA Digestion Buffer (DNA消化液)	5 μ l

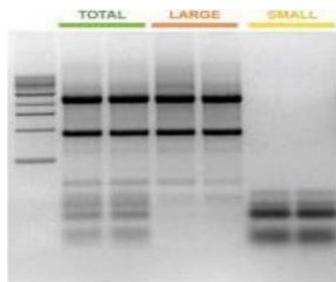
b) 上述样本 (RNA sample) 与DNase I 的混合液, 室温 (20 $^{\circ}$ ~30 $^{\circ}$ C) 孵育15分钟。

c) 上述样本混合液, 完成DNA残留处理过程后等待备用

以下为Total RNA (>17 nt) 分离不同片段RNA前处理过程:

1. 制备RNA结合液的混合物, (根据所需纯化的样本份数) 每份混合体积为50 μ l的RNA结合液混合50 μ l的无水乙醇 (95%~100%), 充分混匀备用。
2. 上述100 μ l RNA结合液的混合物 与56 μ l RNA样本(上述步骤c)混合体系, 充分混匀。
3. 加入15 μ l 磁珠, 室温混匀15min, 尽量避免磁珠沉降, (可以选用台式混样器)。
4. 将离心管放在磁力架上, 待磁珠完全吸附, 上下颠倒冲洗贴壁残留磁珠。
5. 上述磁珠完全吸附后(此时large RNA>200 nt 已经与磁珠完全结合), 取出全部上清液~150 μ l 加入96孔提取板中, 准备分离纯化Micro RNA。。

不同片段的RNA回收步骤:



Total RNA (>17 nt)
Large RNA (>200 nt)
Small RNA (17-200nt)

使用此产品, 可以有效地分离和纯化不同片段大小的 RNA

17nt-200nt之间的Micro RNA
在上面步骤5 中的全部上清液
当中。

6. 上面步骤5中全部上清液~150 μ l 加入96孔板位置：32次规格的1、7列；96次规格的第1板。
7. 注意使用全自动纯化板前，轻轻甩动或吊篮式离心机短暂离心纯化板，使得贴壁磁珠或试剂掉落至纯化板底部。

>200nt 的 Large RNA 保存在上面步骤5中磁珠内。（选做）

6. 上接步骤5，将离心管从磁力架上取下来，管中加入500 μ l RNA 预洗液，充分混悬磁珠1min。
7. 放回磁力架，上下颠倒冲洗贴壁残留磁珠，待磁珠完全吸附，弃废液。
8. 将离心管从磁力架上取下来，管中加入600 μ l RNA 洗涤液，充分混悬磁珠1min。
9. 放回磁力架，上下颠倒冲洗贴壁残留磁珠，待磁珠完全吸附，弃废液。
- 10.重复步骤8、9
- 11.将离心管从磁力架上取下来，管中加入600 μ l无水乙醇，充分混悬磁珠1min。
- 12.放回磁力架，上下颠倒冲洗贴壁残留磁珠，待磁珠完全吸附，弃废液，室温晾干残留无水乙醇~5min。
- 13.向晾干磁珠表面加入 \geq 35 μ l无酶水，充分涡旋，混悬磁珠，洗脱Large RNA。
- 14.放回磁力架，待磁珠完全吸附，取出洗脱好的Large RNA洗脱液到一个干净的无DNaseI/RNase的离心管中，-80 $^{\circ}$ C保存。

全自动纯化步骤及程序设置（参考）

此程序针对TB113 磁棒式自动提取仪，如简石生物技术有限公司 BrightBOT - 16 - 32 - 96。

BrightBOT-16	BrightBOT-32	BrightBOT-96
		
特点：体积最小便于科研用户使用 尺寸：255mm×320mm×275mm (W×D×H)	特点：适用于工业客户使用 尺寸：400mm×400mm×450mm (W×D×H)	特点：适用于高通量的工业客户 尺寸：550mm×610mm×512mm (W×D×H)

TB113-32-kf纯化板试剂分布
注:第1板为样品上清液添加位置

	1、7列	2、8列	3、9列	4、10列	5、11列	6、12列
A	无水乙醇 150μl 磁珠15μl	RNA预洗液 600μl	RNA洗涤液 600μl	RNA洗涤液 600μl	无水乙醇 600μl	无酶水50μl
B						
C						
D						
E						
F						
G						
H						

程序设置: TB113-32-kf

裂解加热: 关		裂解温度: -		裂解终止: -	
洗脱加热: 关		洗脱温度: -		洗脱开始: -	
	步骤一	步骤二	步骤三	步骤四	
名称	结合	洗涤1	洗涤2	洗涤3	
孔位	1	2	3	4	
等待时间	-	-	-	-	
混合时间	600s	120s	120s	120s	
磁吸时间	100s	100s	100s	100s	
容积	300μl	600μl	600μl	600μl	
速度	快	快	快	快	

裂解加热: 关		裂解温度: -		裂解终止: -	
洗脱加热: 关		洗脱温度: -		洗脱开始: -	
	步骤五	步骤六	步骤七		
名称	洗涤4	洗脱	弃磁珠		
孔位	5	6	5		
等待时间	-	300s-	-		
混合时间	120s	300s	100s		
磁吸时间	100s	100s	-		
容积	600μl	35~50μl	600μl		
速度	快	快	快		

TB113-96-kf提取板试剂分布
注：第1板为样品上清液添加位置；

	1板	2板	3板	4板	5板	6板
A	无水乙醇 150μl 磁珠15μl	RNA预洗液 600μl	RNA洗涤液 600μl	RNA洗涤液 600μl	无水乙醇 600μl	无酶水50μl
B						
C						
D						
E						
F						
G						
H						

程序设置：TB113-96-kf

裂解加热：关		裂解温度：-		裂解开始：-	
洗脱加热：关		洗脱温度：-		洗脱开始：-	
	步骤一	步骤二	步骤三	步骤四	
名称	结合	洗涤1	洗涤2	洗涤3	
板位	1	2	3	4	
等待时间	-	-	-	-	
混合时间	600s	120s	120s	120s	
磁吸时间	100s	100s	100s	100s	
容积	300μl	600μl	600μl	600μl	
速度	快	快	快	快	

裂解加热：关		裂解温度：-		裂解开始：-	
洗脱加热：关		洗脱温度：-		洗脱开始：-	
	步骤五	步骤六	步骤七		
名称	洗涤4	洗脱	弃磁珠		
板位	5	6	5		
等待时间	-	300s-	-		
混合时间	120s	300s	100s		
磁吸时间	100s	100s	-		
容积	500μl	35~50μl	600μl		
速度	快	快	快		

组件查询

组件名称	货号	规格	储存条件
RNA结合液	TR1013-2-5	5ml	室温
	TR1013-2-10	10ml	
RNA预洗液	TR1060-2-25	25ml	室温
	TR1060-2-50	50ml	
RNA洗涤液 (未添加乙醇)	TR1003-3-12	12ml	室温
	TR1003-3-24	24ml	
磁珠	TD4100-2-1	1ml	室温
	TD4100-2-2	2ml	
DNA消化液	TE1010-1-1	1ml	室温
	TE1010-1-2	2ml	
DNase I	TE1009-A	250U	-20℃
无DNase/RNase水	TW1001-5	5ml	室温
96孔深孔板V底2.2ml	TC2018	2块/包	室温