

# 尿液RNA提取试剂盒 (离心柱)

(使用说明书 Ver.1.1.1)

## 产品特点

- ✧ 采用快速的离心柱纯化技术，可从细胞、尿液中的生物沉积物、大体积液体样本中提取总 RNA，也适用于从微囊泡中分离 RNA。
- ✧ 采用独特的纯化柱技术，RNA 洗脱体积 $\geq 6\mu\text{l}$ 。
- ✧ 提取的 RNA 可直接用于二代测序 (Next-Gen Sequencing)、逆转录定量PCR反应 (RT/qPCR) 等实验。

产品货号：

TR1038 (20次) TR1039 (50次)



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            | 1 |
| 操作步骤            | 2 |
| (I) 缓冲液配置       | 2 |
| (II) 样本制备       | 2 |
| (III) RNA纯化     | 3 |
| 附录              | 3 |
| DNase I处理       | 3 |
| 从尿液中分离微泡及微泡 RNA | 3 |
| 组件查询            | 4 |

产品组份

| 试剂盒组成             | TR1038（20次） | TR1039（50次） | 保存 |
|-------------------|-------------|-------------|----|
| 尿液RNA缓冲液          | 20ml        | 50ml        | 室温 |
| RNA预洗液            | 10ml        | 25ml        | 室温 |
| RNA洗涤液<br>(未添加乙醇) | 12ml        | 24ml        | 室温 |
| 无DNase/RNase水     | 1ml         | 1ml         | 室温 |
| 尿液过滤器             | 20个         | 50个         | 室温 |
| 1号C纯化柱            | 20个         | 50个         | 室温 |
| 2ml收集管            | 20个         | 50个         | 室温 |

注意事项

- ✧ 本产品自售出之日起提供一年质量保证。所有试剂均通过严格质量检测，确保性能稳定可靠。
- ✧ 本产品仅供专业研究人员在受控环境下使用。操作人员须佩戴防护手套及护目装置等个人防护装备，并严格遵守所在机构的安全操作规程。请注意，部分试剂可能具有刺激性，使用时需特别谨慎。
- ✧ 避免试剂长时间暴露于空气中，以防挥发、氧化或pH值变化，使用后请立即盖紧瓶盖，并按照说明书要求妥善储存。

产品特性

- ✧ 样本来源：标准反应体系中，样本为 30ml 尿液及其他含有细胞、生物沉积物、微囊泡等含RNA的液体样本。
- ✧ 回收率：通常每30 ml尿液样本可提取0.2至3.0 µg RNA。
- ✧ 纯度： $A_{260}/A_{280}$  及  $A_{260}/A_{230} > 1.8$ 。提取的 RNA 可直接用于二代测序、RT/qPCR等实验。痕量 DNA 可通过 DNase I 消化去除。
- ✧ 结合容量：1号C纯化柱可结合多达 10µg RNA。
- ✧ 洗脱体积：用≥6µl 无 DNase/RNase 水进行洗脱。
- ✧ 所需设备（用户自备）：微型离心机、涡旋振荡器、注射器（如30 ml、1 ml）。

产品描述

尿液RNA提取试剂盒专为快速从尿液样本中的细胞中分离总 RNA 而设计。使用注射器（试剂盒不提供）和特制的注射器过滤器分离尿液中的细胞，然后使用特制的尿液 RNA缓冲液裂解细胞并稳定总 RNA。收集的裂解液可立即使用，也可经运输储存后再进行使用。此外，该试剂盒也可直接从尿液滤液中可能存在的微囊泡中分离 RNA。通过1号C纯化柱的基质吸附作用一步完成 RNA 的分离，然后进行洗涤和洗脱。从尿液样本中提取的高质量总 RNA，适用于包括二代测序、RT/qPCR等后续分析实验

步骤1: 从尿液样本中分离  
细胞成分。



步骤2  
细胞裂解并分离细胞内成分。



收集的裂解液可储存后运  
送至实验室检测。

步骤3

总RNA的分离/纯化。



## 操作步骤

该实验方案包含以下三个步骤： (I) 缓冲液配制 (II) 样本制备 (III) RNA纯化

### (I) 缓冲液配置

向12 ml RNA洗涤液 (TR1038) 中加入48 ml 100%乙醇 (或52 ml 95%乙醇)，或向24 ml RNA洗涤液 (TR1039) 中加入96 ml 100%乙醇 (或104 ml 95%乙醇)。

### (II) 样本制备

- ◇ 所有步骤在室温下进行 (除非特别说明)。
- ◇ 以下样本制备步骤适用于从 30ml 尿液样本中分离细胞，并进行后续总 RNA 纯化。

#### 从尿液中分离细胞

1. 用注射器 (试剂盒不提供) 将不超过 30ml 新鲜尿液完全推注通过尿液过滤器，以分离过滤器中的细胞。再推注数倍体积的空气，彻底去除过滤器中的尿液。
2. (若要从尿液微囊泡中分离 RNA，请勿丢弃滤液。)
3. 用注射器将700  $\mu$ l 尿液RNA缓冲液通过过滤器，收集滤出液至无DNase/RNase的离心管 (需自备)。再推注数倍体积的空气通过过滤器，收集所有残留的过滤液。用涡旋振荡器短暂涡旋，混匀试管中的液体。继续RNA纯化步骤。

注：

- 1.使用同一过滤器重复注射器过滤步骤，最高可处理200 ml尿液。RNA回收率与过滤尿量成正比。
- 2.滤出液可立即用于RNA纯化，或按以下条件保存：室温~7天内稳定；0-8°C~2周内稳定；-20°C~6个月内稳定。长期保存建议-70°C。纯化 RNA 前，需将样本恢复至室温。

### (III) RNA纯化

- ✧ 所有步骤在室温下进行，离心条件为10,000-16,000 x g，30秒（除非特别说明）。
- 1. 向滤出液中加入等体积乙醇（95-100%），混匀。（例如：700 µl滤出液加700 µl乙醇。）
- 2. 将混合液转移至1号C纯化柱中，离心后丢弃滤出液。（可选：此时可进行DNase I处理。）
- 3. 向纯化柱中加入400 µl RNA预洗液，离心后丢弃滤出液。
- 4. 向纯化柱中加入700 µl RNA洗涤液，离心后丢弃滤出液。
- 5. 向纯化柱中加入400 µl RNA洗涤液，离心1分钟以彻底去除洗涤液。将纯化柱转移至无DNase/RNase的离心管（需自备）。
- 6. 直接向纯化柱基质中加入15 µl 无DNase/RNase水，离心。

注：若要获得高浓度的 RNA，洗脱体积需≥6µl。

洗脱的 RNA 可立即使用，或冷冻保存。

若要处理体积>700µl 的样本，可重复上样至纯化柱。

## 附录

### DNase I处理

- ✧ 使用DNase I试剂盒（货号 TE1010）和RNA洗涤液进行DNase I处理（需单独购买）。
- ✧ 所有步骤均在室温下完成，离心条件为10,000-16,000×g，离心30秒（除非另有说明）。
- 1. 在RNA结合步骤（III，步骤2）后，向纯化柱中加入400 µl RNA洗涤液，离心，弃去滤出液。
- 2. 为每个样本配制DNase I反应混合液（见下表），轻轻颠倒混匀后取40 µl加入纯化柱基质中，室温（20-30°C）孵育15分钟，继续纯化步骤（III，步骤3）。

注：使用前，将冻干的 DNase I 用 275µl 无 DNase/RNase 水复溶。轻轻颠倒混匀，分装冷冻保存。

| DNase I反应混合液        |       |
|---------------------|-------|
| DNase I（复溶后：1 U/µl） | 5 µl  |
| DNA消化液              | 35 µl |

### 从尿液中分离微泡及微泡RNA

1. 尿液通过尿液过滤器后（II，步骤1），保留滤液。
2. 微囊泡可通过以下方法分离
  - a. 超速离心法（例如：4°C条件下118,000×g离心70分钟；弃去上清液）。加入700 µl尿液RNA缓冲液重悬沉淀，充分混匀。
  - b. 过滤法（例如：使用Amicon过滤装置、Millipore或类似产品）。用700 µl尿液RNA缓冲液洗脱含有分离微泡的过滤器，充分混匀。
3. 继续RNA纯化步骤（III，步骤1）。

组件查询

| 组件名称              | 货号          | 规格    | 储存条件 |
|-------------------|-------------|-------|------|
| 尿液RNA缓冲液          | TR1038-2-20 | 20ml  | 室温   |
|                   | TR1038-2-50 | 50ml  |      |
| RNA预洗液            | TR1060-2-10 | 10ml  | 室温   |
|                   | TR1060-2-25 | 25ml  |      |
| RNA洗涤液<br>(未添加乙醇) | TR1003-3-12 | 12ml  | 室温   |
|                   | TR1003-3-24 | 24ml  |      |
| 无DNase/RNase水     | TW1001-1    | 1ml   | 室温   |
| 尿液过滤器             | TC011-10    | 10个/包 | 室温   |
|                   | TC011-50    | 50个/包 |      |
| 1号C纯化柱            | TC1004-10   | 10个/包 | 室温   |
|                   | TC1004-50   | 50个/包 |      |
| 2ml收集管            | TC1001-20   | 20个/包 | 室温   |
|                   | TC1001-50   | 50个/包 |      |