

血清/血浆游离RNA提取试剂盒（离心柱）

（使用说明书 Ver.1.0.7）

产品说明

- ◇ 可从3ml以内的血清/血浆或其它液体样品中提取到高纯度的游离RNA。
- ◇ 获得的RNA产量高、纯度好，可以直接用于高通量测序等分子生物学实验。
- ◇ 和同类产品比较，该试剂盒的结合体系最多可回收得到515xmicroRNA。

产品货号：

TR159-10（10次反应）

TR159- 50（50次反应）



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 |
| 组件查询 | 3 |

产品组份

| 试剂盒组成 | 10次 | 50次 | 保存 |
|---------------|-------|---------|-------|
| 蛋白酶 K | 20mg | 3*20mg | -20°C |
| 蛋白酶K保存液 | 1.2ml | 3*1.2ml | -20°C |
| 游离RNA消化液 | 10ml | 50ml | 室温 |
| 游离RNA结合液 | 20ml | 100ml | 室温 |
| RNA回收液 | 2ml | 10ml | 室温 |
| RNA洗涤液1 | 10ml | 50ml | 室温 |
| RNA洗涤液2 | 3ml | 12ml | 室温 |
| 无DNase/RNase水 | 1ml | 4ml | 室温 |
| 1号C纯化柱 | 10个 | 50个 | 室温 |
| 25ml漏斗 | 10个 | 25个*2 | 室温 |
| 3号Y纯化柱(黄) | 10个 | 50个 | 室温 |
| 2ml收集管 | / | 100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

- ◇ 样品种类:最多3ml的血清，血浆，羊水，脑脊液（CSF），尿液等液体样本。
- ◇ 纯度:获得的游离RNA可以直接用于qPCR,高通量测序等各种分子生物学实验。
- ◇ 片段大小:RNA≥17nt。
- ◇ 产量: 本试剂盒针对无细胞的游离核酸提取经过优化，总量根据不同的样品个体差异可能会比较大。一般从1ml的血清或血浆中提取到游离RNA的量在1-100ng。
- ◇ 需要的仪器设备:水浴锅或者金属浴。微型离心机，负压多联器或立式离心机。

- ◇ 操作时间:一般30-45分钟可以处理10个样品。样品消化步骤需要2个小时。

溶液制备

- ◇ 使用前需要添加1040μl蛋白酶K保存液到蛋白酶K(20mg)里。蛋白酶K的终浓度约为20mg/ml。混匀之后放在-20°C保存。
- ◇ 使用前需要添加48ml 95-100%的无水乙醇到12ml的RNA洗涤液2。

操作步骤:

所有的离心步骤均在 $\geq 12,000 \times g$ 的离心力下离心30秒,除非特殊说明。一般常温(20-30°C)进行以下操作步骤:

1. 在 $\geq 12,000 \times g$ 的离心力下离心样品15分钟来去除细胞杂质和沉淀。
2. 按照每200μl样品(血浆,血清或其他生物液体样品)添加200μl游离RNA消化液,放入一个15ml的离心管,混匀。如果样品体积 ≥ 1.5 ml,则需要使用50ml的离心管。
3. 按照每200μl样品添加10μl的蛋白酶K溶液,涡旋混匀10秒,37°C下孵育2小时。
4. 添加1体积的游离RNA结合液到消化的样品中并且涡旋混匀10秒。(例如400μl结合液到410μl的消化样品中)
5. 添加1.5倍体积的100%的异丙醇到步骤4中的混合物中,涡旋混匀10秒。(例如1.2ml的异丙醇到810μl的混合物中。)

快速操作表格

| | | | | |
|-------------------|--------|--------|-------|-----------|
| 样品体积 | 200 μl | 500 μl | 1 ml | 3 ml (最大) |
| 游离RNA消化液 | 200 μl | 500 μl | 1 ml | 3 ml |
| 蛋白酶K | 10 μl | 25 μl | 50 μl | 150 μl |
| 涡旋混匀并且在37°C下孵育2小时 | | | | |
| 游离RNA结合液 | 400μl | 1 ml | 2ml | 6ml |
| 100%异丙醇 | 1.2ml | 3 ml | 6ml | 18ml |
| 总体积 | 2ml | 5 ml | 10ml | 30 ml |

*如处理3ml样品,试剂盒组件不够需要额外订购。

6. 将25ml漏斗套到3号Y纯化柱(黄)内,连接紧密后放置在负压多连器上。
7. 倒入上述步骤6的混合液,打开真空开关使液体完全通过纯化柱。确保液体完全通过纯化柱并且没有残留液体下流后,关闭真空泵并拔掉连接的25ml漏斗。
8. 倒入600μl RNA洗涤液1到纯化柱上,打开真空开关,让液体完全通过3号Y纯化柱(黄),关闭真空泵。
9. 将3号Y纯化柱(黄)套在2ml收集管上,然后放置在台式离心机上全速离心2分钟以去除液体残留,然后将3号Y纯化柱(黄)套在一个干净的1.5ml离心管内。
10. 添加200μl的RNA回收液到3号Y纯化柱(黄)中,室温放置3分钟,离心,保存滤出液。
11. 添加300μl无水乙醇(95-100%)到滤出液中,混匀。
12. 将1号C纯化柱套在一个新的2ml收集管上。添加上述混合物到柱中,离心去除滤出液。

13. 添加400μl的RNA洗涤液1, 离心去除滤出液。
14. 添加700μl的RNA洗涤液2, 离心去除滤出液。
15. 添加400μl的RNA洗涤液2到1号C纯化柱中, 离心2分钟完全去除纯化柱上残留的液体, 将1号C纯化柱转移到一个干净的离心管内
16. 添加15μl的无DNase/RNase水到柱基质上, 放置2分钟后离心来洗脱游离DNA。

附录1: 处理保存在DNA/RNA保护剂中的样品

对于保存在DNA/RNA保护剂(货号TR120)中的无细胞生物样品。采用下述改进的步骤进行操作。

1. 每1ml的DNA/RNA保护剂的样品添加25μl的蛋白酶K溶液, 涡旋混匀10秒, 37°C下孵育2小时。
(例如: 500μl的无细胞体液, 500μl的DNA/RNA 保护剂, 25μl蛋白酶K)
2. 添加1体积的游离RNA消化液到上述消化的样品中并且涡旋混匀10秒。 (例如1ml游离RNA消化液到1ml的消化样品中)
3. 添加1体积的游离RNA结合液到到步骤2的混合物中并且涡旋混匀10秒。 (例如2ml游离RNA结合液到2ml的混合物中)
4. 添加1.5倍体积的100%的异丙醇到步骤3中的混合物中, 涡旋混匀10秒。 (例如6ml的100%异丙醇到4ml的混合物中)

快速操作表格

| | | | | |
|-------------------|--------|---------|-------|-----------|
| 样品体积 | 200 μl | 500 μl | 1 ml | 3 ml (最大) |
| 蛋白酶K | 5 μl | 12.5 μl | 25 μl | 75 μl |
| 涡旋混匀并且在37°C下孵育2小时 | | | | |
| 游离RNA消化液 | 200μl | 500μl | 1 ml | 3 ml |
| 游离RNA结合液 | 400μl | 1 ml | 2ml | 6ml |
| 100%异丙醇 | 1.2ml | 3 ml | 6ml | 18ml |
| 总体积 | 2ml | 5 ml | 10ml | 30 ml |

5. 接下来按照主操作步骤的第6步进行游离RNA提取。

附录2: 游离核酸血液保存管

本试剂盒兼容我公司游离核酸血液保存管(货号TS002)或其他公司同类产品如streck。

1. 在≥12, 000xg的离心力下离心样品15分钟来去除细胞杂质和沉淀。
2. 按照每200μl样品(血浆, 血清或其他生物液体样品)添加200μl游离RNA消化液, 放入一个15ml的离心管, 混匀。如果样品体积≥1.5ml, 则需要使用50ml的离心管。
3. 接下来按照主操作步骤的第3步进行游离RNA提取。

组件查询

| 组件名称 | 货号 | 规格 | 储存条件 |
|---------------|--------------|-------|-------|
| 蛋白酶K | TD3001-2-B | 20mg | -20°C |
| 蛋白酶K保存液 | TD3001-2-D | 1.2ml | -20°C |
| 游离RNA消化液 | TR1059-3-10 | 10ml | 室温 |
| | TR1059-3-50 | 50ml | |
| 游离RNA结合液 | TR1059-4-20 | 20ml | 室温 |
| | TR1059-4-100 | 100ml | |
| RNA回收液 | TR1070-1-2 | 2ml | 室温 |
| | TR1070-1-10 | 10ml | |
| RNA洗涤液1 | TR1059-5-10 | 10ml | 室温 |
| | TR1059-5-50 | 50ml | |
| RNA洗涤液2 | TR1003-3-3 | 3ml | 室温 |
| | TR1003-3-12 | 12ml | |
| 无DNase/RNase水 | TW1001-1 | 1ml | 室温 |
| | TW1001-4 | 4ml | |
| 1号C纯化柱 | TC1004-10 | 10个 | 室温 |
| | TC1004-50 | 50个 | |
| 25ml漏斗 | TC1039-10 | 10个 | 室温 |
| | TC1039-25 | 25个 | |
| 3号Y纯化柱(黄) | TC1006-10-F | 10个 | 室温 |
| | TC1006-50-F | 50个 | |
| 2ml 收集管 | TC1001-50 | 50个 | |