

快速RNA微量提取试剂盒

(使用说明书 Ver.1.1.2)

产品说明

- ◇ 适用于从细胞、组织、酵母菌、植物或者细菌中提取总RNA(含microRNA)。
- ◇ 可从至少1个细胞中提取到microRNA, 提取的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	8
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℃
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

- ✧ 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。
- ✧ 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℃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)

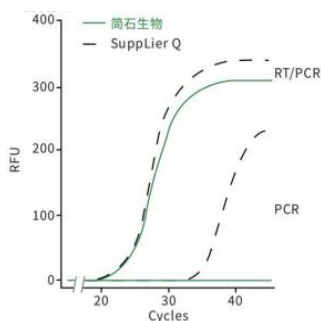
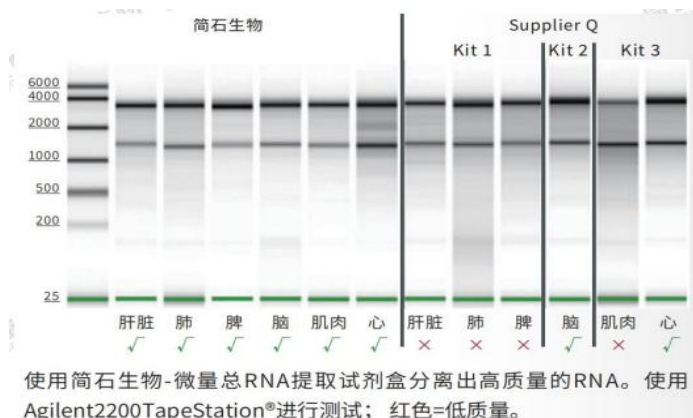
产品特性

- ✧ 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/RNA Shield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）的样品。不适用于全血和尿液样品。
- ✧ 大小：总RNA，包括small/microRNA (≥17 nt) 。

- ✧ 纯度：A260/A280和A260/A230 > 1.8。所提取的 RNA 可直接用于下一代测序、RT/qPCR 等实验。通过 DNase I 消化能够有效去除痕量 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：≥6 µl 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 (≥ 17 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 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10⁶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，按照规定比例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275μl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 裂解液	(I)样品前处理（样品裂解/匀浆）
细胞	悬浮动物细胞培养	≤10 ⁵ 细胞	≥100μl	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≤ 500 x 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≤6cm 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，这并不意味着裂解不完全，此时细胞膜已完全破裂开，核酸已释放。
		≤10 ⁶ 细胞	≥300μl	
	贴壁动物细胞培养	≤5x10 ⁶	≥600μl	
	革兰氏 (-) 菌	≤10 ⁸	≥600μl	
组织	哺乳动物	≤5 mg	≤600μl	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 μlRNA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×1) 植物/昆虫：(60Hz，45-60s/周期×2)
	动植物新鲜/冷冻样品 植物/种子/昆虫	≤5 mg	≤600μl	
微生物	细菌/酵母/粪便/土壤	≤10 ⁶	≥600μl	样品均质仪（“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×2)
液体样	血浆/血清/	≤200μl	600μl	液体样品中加入3倍体积的RNA裂解液，混

品	白细胞/脑脊液等			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 (EZS hield®)	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≤105)则无需此步。

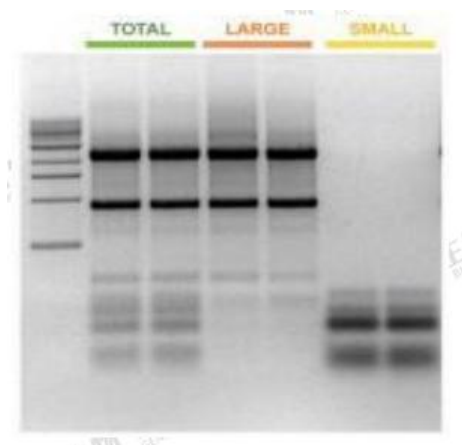
上述匀浆裂解后的混合物放置在合适容器中，离心1分钟（离心力≥12,000xg），将上清移至干净的离心管中。（注意：移液过程避免吸取到底部杂质）

(II) RNA纯化

以下离心力均在10,000-16,000xg范围内进行。

1. 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。
2. 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。
3. 柱上DNase I消化处理（可选）此步骤主要是为了去除痕量的DNA。
 - a) 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。
 - b) 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。
 - c) 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℃)孵育15分钟
4. 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。
5. 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。
6. 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。
7. 空转2分钟以去除残留的乙醇，以免抑制下游反应。
8. 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℃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 ($\leq 10^6$) 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：50 μ l的RNA裂解液和50 μ l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100 μ l的混合物到50 μ l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 μ l的无水乙醇到150 μ l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50 μ l (最小值)。如果要处理>700 μ l的样品，可多次重复过纯化柱的操作。

FAQ常见问题及解决方法

Q: 问题	A.: 可能的原因和建议的解决方案
是否需要DNase I处理; 溶解后的DNase I如何保存?	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; 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, 避免浓度虚高。 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。
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?	总RNA快速提取试剂盒 (从TRIzol®裂解物中提取) 直接用于储存/收集到TRIzol®/裂解液类似试剂中的样品。 小量总RNA提取试剂盒 适用于所有其他样品,
样品可以在处理前, 可以储存在RNA裂解液里吗?	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。
RNA洗涤液用完了, 可以使用其他溶液替代吗?	使用80%乙醇作为替代品。RNA洗涤缓冲液也单独出售。
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)	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。 需要优化/增加裂解试剂的体积 (例如, TRI试剂/ TRIzol®/裂解液 或 RNA裂解液)。
如何提高RNA产量?	1.确保完全裂解, 增加裂解试剂的体积 (即增加 TRI 试剂/ TRIzol®/裂解液 或 RNA 裂解缓冲液的体积)。 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 3.在添加TRI试剂/ TRIzol®/裂解液或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)

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TRIzol®裂解物中提取)		
TR199	LS液体样本总RNA提取试剂 (裂解液 Reagent)	50/100ml
TR201	总RNA提取试剂 (裂解液 Reagent)	50/100ml
TR205	小量总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 (EZShield®))	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℃
	TE1009-A	250U	-20℃
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