



UUBIO组织RNA快速提取试剂盒

使用说明书

Tissue RNA-Quick Purification Kit

· 产品描述

本试剂盒可以从少量的生物样品中快速提取高质量的总RNA。具有操作简单、快速、稳定性高的优势。适用于组织RNA的提取，提取得到的总RNA可用于RT-PCR、qPCR、Northern blotting、cDNA文库构建等多种实验。本试剂盒由裂解液、分层液、清洗液、洗脱液组成，其中裂解液(Lysis Buffer)中含有强变性剂和RNA酶抑制剂，能够迅速裂解样品并失活RNA酶，确保操作过程中RNA的完整性。

本试剂盒大致的操作过程如下：首先用裂解液裂解样品；裂解好的样品按比例加入分层液离心，取上清加入乙醇混匀即可上柱，离心去掉液体将RNA结合在柱子上；杂质在清洗过程中被有效去除；洗脱RNA并用于下游实验。整个提取过程仅需20分钟。

· 产品组成

组分	U10018B (100T)	U10018B-T (5T)	保存
Lysis Buffer	50 mL	2.5 mL	开封后2-8°C
分层液	12 mL	600 μ L	常温保存
Wash Buffer	12 mL	600 μ L	常温保存
Elution Buffer	10 mL	0.5 mL	常温保存
RNA纯化柱 (带收集管)	100套	5套	常温保存

* 注：第一次使用前，须向Wash Buffer中加入标签指定体积的无水乙醇，需自备无水乙醇。

· 保存条件

Lysis Buffer开封后避光保存在2~8°C，其余试剂和RNA纯化柱室温保存(使用中谨防试剂被污染)。

· 使用建议

本试剂盒可提取组织重量不超过50 mg的RNA，组织用量参考右表：

组织种类	参考重量 (mg)
肝脏、肠	2-10
心、肾、脾、肺、胰、肠	5-50
肌肉、皮肤	10-50
肿瘤、胚胎	5-50
脂肪	30-50

注：整个操作过程在4°C进行。



· 操作步骤



1. 样品裂解

- 1) 切取1~50 mg的组织小块至1.5 mL离心管(组织用量参考以上表格), 加入500 μ L Lysis Buffer, 用组织匀浆机、手持匀浆仪或研磨棒磨碎组织。组织必须充分匀浆, 直至无肉眼可见的组织块。
- 2) 加入100 μ L的分层液, 用手剧烈摇晃混匀10~15 s, 室温静置2分钟。
- 3) 13,000 rpm, 4 $^{\circ}$ C离心2分钟, 转移约250 μ L上层至新的1.5 mL离心管中。切勿吸取白色中间层和红色下层。

2. 上柱/RNA结合

- 1) 对于提取常规mRNA和lncRNA, 向吸出的上清中加入等体积的无水乙醇充分混匀(可能会产生沉淀, 这是正常现象, 继续进行操作即可, 如用于提取miRNA, 需要加入1.6倍体积的无水乙醇混匀), 加入到离心柱中。
- 2) 7,000 rpm (或5000 g), 4 $^{\circ}$ C离心1分钟。

3. 柱清洗

- 1) 向RNA柱中加入500 μ L的Wash Buffer, 12,000 rpm离心1.5分钟(离心结束后取出柱子时注意不要让收集管内的废液接触到RNA柱, 以免污染。可以倒掉废液, 将RNA柱装回收集管, 空管离心一次, 能完全去除可能残留的Wash Buffer)。
- 2) 将柱子放到干净的无RNA酶的1.5 mL离心管上, 开盖晾干2分钟。此步骤为了彻底去除残余的乙醇。

4. RNA洗脱

- 1) 在RNA柱的膜中心部位加入30~50 μ L的Elution Buffer, 室温静置2分钟。
- 2) 12,000 rpm离心1分钟(洗脱下来的RNA溶液重新加入柱中, 静置2分钟, 再次离心可提高洗脱效率, 得到更多RNA)。RNA洗脱下来后, 建议置于冰上。
- 3) 测定洗脱的RNA浓度, 以便于后续实验使用。提取出来的RNA可立即用于后续实验, 也可保存在-80 $^{\circ}$ C备用。



关于RNA浓度与纯度:本试剂盒提取RNA,使用Nanodrop等微量分光光度计测定OD260/280值在1.90~2.2之间,OD 260/230值在1.40~2.1之间均属正常(因不同仪器之间存在误差,若OD260/280比值略有超出,但上下不超过0.1,且吸光度曲线正常,则亦可接受)。经检测,对于极少量组织样品,使用本试剂盒提取的RNA浓度最低不低于30ng/ μ L即可使用。

· 常见问题解决方案

1. RNA产量过低,或用已经验证过的引物检测基因表达,检测到的内参基因Ct值偏大,或无法做出正常的扩增结果。

a.检查所使用的试剂是否受到污染:建议试剂盒开封后,每种buffer分装为2份,每次使用时应严格按照操作,防止交叉污染。

b.溶解好的引物应该分装为小份冻存,以减少引物降解及降低污染的可能性。

c.检查操作流程是否正确,例如:

1) Lysis Buffer需2~8°C避光保存,使用前取出恢复至室温使用。其余试剂均须室温保存;

2) 每瓶Wash Buffer使用前需加入指定体积的无水乙醇混匀才可使用;

3) 组织样品裂解前须称重,一般不超过50 mg。对于肝脏等RNA含量较高的组织应降低样品用量(建议不超过10 mg,即可满足常规实验要求),以免提取出的RNA中混杂有大量无用的5S rRNA;

4) 裂解产物加入分层液混匀后,静置离心,取上清。上柱前上清液需要加入等体积的无水乙醇,充分混匀后加入离心柱中离心;

5) 洗涤时需用12,000 rpm高速离心充分去除Wash Buffer,完成清洗后需开盖晾干2分钟;

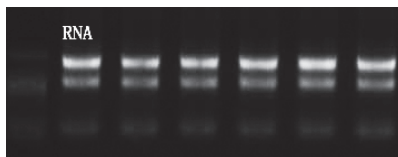
6) 洗脱液的体积可以根据需要在一定范围内调整(一般20~30 μ L即可,最少不可少于20 μ L,否则无法充分溶解RNA),以浓度满足后续实验需求为宜。重复洗脱一次及延长放置时间至5分钟均可提高RNA产量。

7) 经测试,本试剂盒最大约可提取40 μ g左右的总RNA。

2. OD 260/230数值偏低:提取的RNA中残留有少许盐离子,完全不影响后续检测。

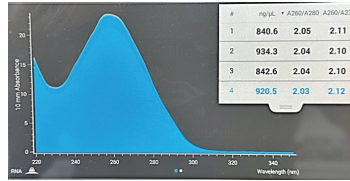
实验结果示例:

1) 总RNA提取效果:从左至右依次为肝、肠、肺、心、肾、皮肤。可见,本试剂盒提取RNA的完整性和纯度很高。





2) Nanodrop检测RNA纯度:应用本试剂盒和Trizol分别提取10 mg小鼠肠组织RNA。样品1和2为本试剂盒提取RNA, 样本3和4为Trizol提取RNA。Nanodrop测得的浓度和OD260/280比值表明本试剂盒提取RNA产量和纯度与Trizol相当, 可以很好的替代Trizol法。



3) 本试剂盒提取RNA测试结果:应用本试剂盒和Trizol法提取小鼠肠组织RNA, 分别检测miR-223-3p和CPT1A基因表达。qPCR结果表明, 本试剂盒提取RNA的Ct值与Trizol法几乎一模一样, 可完美替代Trizol。

