

## 微量总 RNA 提取试剂盒

### MicroElute<sup>®</sup> Total RNA Kit

货号	R6831-00	R6831-01	R6831-02
反应次数	5 次	50 次	200 次
MicroElute <sup>®</sup> RNA Mini Columns	5 个	50 个	200 个
2 mL Collection Tubes	10 个	100 个	400 个
TRK Lysis Buffer	5 mL	25 mL	100 mL
RWF Wash Buffer	5 mL	50 mL	200 mL
RNA Wash Buffer II	2 mL	12 mL	50 mL
Nuclease-free Water	5 mL	20 mL	60 mL
Carrier RNA	100 µg	310 µg	1 mg
User Manual	✓	✓	✓

#### ★ 保存方式及稳定性

1. 按条件保存的试剂盒保质期为 24 个月（见盒外失效日期），所有组分均可常温运输；
2. Carrier RNA 溶解后长期保存放置-70°C；
3. 当贮存温度较低时，TRK Lysis Buffer 易析出沉淀，请在使用前把整瓶试剂置于 37°C 中至沉淀完全溶解，充分混匀后再使用；
4. 本试剂盒仅供科学研究使用。

#### ★ 实验前准备

1. 按照下表提示，使用【无水乙醇】对 RNA Wash Buffer II 进行稀释，稀释后室温保存；

货号	无水乙醇 加入量
R6831-00	8 mL
R6831-01	48 mL
R6831-02	200 mL

- (可选) 每毫升 TRK Lysis Buffer 需加入 20 $\mu$ L 2-巯基乙醇, 该混合液可室温贮存两周;
- (可选) 准备 Carrier RNA Solution (1 $\mu$ g/ $\mu$ L), 按照下表把 Carrier RNA 溶解到 Nuclease-free Water 中并保存于-70 $^{\circ}$ C。

货号	Nuclease-free Water 加入量
R6831-00	100 $\mu$ L
R6831-01	310 $\mu$ L
R6831-02	1 mL

按照 1: 200 的比例混合 Carrier RNA Solution 和 TRK Lysis Buffer 配制成 Carrier RNA Stock Solution (5ng/ $\mu$ L)。例如: 1mL TRK Lysis Buffer 里加 5 $\mu$ L Carrier RNA Solution 进行混合。

## ★ 均质化技术

有效地匀浆均一化组织对于成功分离总 RNA 至关重要。破坏样品细胞壁和原生质体是把 RNA 从样品中释放出来必要的一步, 而均质化是为了降低裂解物的粘度。均质化把基因组 DNA 以及其它高分子细胞成分进行剪切, 形成均质裂解液。不完全均质化会使 MicroElute<sup>®</sup> RNA Mini Column 堵柱, 从而导致产量低或无产量。

### A. 液氮研磨方法

- 使用液氮时, 佩戴合适的手套, 小心操作。
- 切下组织并加入少量液氮迅速冷冻。
- 用陶瓷研钵再大约 10 mL 的液氮中研磨组织样品;
- 将研磨好的悬浮液倒进 15 mL 离心管中;  
# 注意: 离心管需要提前遇冷, 否则样品悬浮液会在管内剧烈沸腾冒出, 可能会导致组织损失。
- 让液氮完全蒸发, 并加入 TRK Lysis Buffer, 继续下面的均质化操作。

## 样品均质化——选择以下其中一种方法

1. 使用注射器及针头：把裂解物在窄针头（19-21 规格）内反复吸打 5-10 次让细胞组织尽量分散；然后按照不同提取方案步骤 1 进行操作。
2. 使用 Homogenizer Mini Column（HCR001,HCR003）以及 2mL 收集管：将 Homogenizer Mini Column 套入 2mL 离心管中，再将裂解液转移至 Column 中，室温 14000xg 离心 2min 去除不溶解的杂质，收集滤液。然后按照不同提取方案步骤 1 进行操作。

### B. 定转子均质仪：样品裂解和均质化

使用定转子均质仪对样品进行裂解和均质化，可以处理大多数的样品。这个过程通常需要时间少于 1min，具体根据不同的样品类型决定。许多均质仪使用不同大小的马达和研磨探头，基本上都可以在合适的离心管中操作。

### C. 珠磨仪：样品裂解和均质化

使用珠磨仪，细胞和组织样品可以在研磨珠和裂解液中快速搅拌进行裂解和均质化。用于酵母/单细胞 RNA 提取最佳的研磨珠大小为 0.5mm，组织样本的为 4-8mm。

### D. 注射针筒：样品裂解和均质化

高分子量的 DNA 会增加细胞裂解液的粘稠度，使用窄针头（19-21 规格）反复吸打 10-20 次可以让样品切碎。

## ★ 提取步骤 —— 激光解剖样品

### ★ 用户自备仪器及耗材：

- ✓ 离心转速可达 13,000xg 的小型离心机
- ✓ 涡旋仪
- ✓ 无酶吸头、1.5mL 及 2mL 离心管
- ✓ 无水乙醇、70%乙醇（由无酶水配置）
- ✓ 匀浆工具（如针管针头、研钵、研磨珠、珠磨仪、定转子均质仪等）

✓ (可选) 14.3 M 2-巯基乙醇、真空抽滤装置、DNase I 消化套装

1. 在 1.5 mL 或 2 mL 离心管中加入 300 $\mu$ L TRK Lysis Buffer;  
# 注意: 使用前 1mL TRK Lysis Buffer 需要加 20 $\mu$ L 2-巯基乙醇;  
# 可选: 如果细胞量 < 5,000 个, 在匀浆前加入 4 $\mu$ L Carrier RNA Stock Solution (5ng/ $\mu$ L)。
2. 把已经按照第 2-3 页的方法匀浆均质化的样品转移到离心管中;
3. 使用 TRK Lysis Buffer 把样品体积补足到 350 $\mu$ L, 涡旋混匀 30s;
4. 加入 1 体积 (350 $\mu$ L) 的 70%乙醇, 涡旋混匀, 请勿进行离心或瞬时离心;  
# 注意: 加入乙醇后可能会形成沉淀, 需把沉淀打散再过柱, 否则容易造成堵柱情况。
5. 将 MicroElute<sup>®</sup> RNA Mini Column 套入收集管中, 转移第 4 步得到的混合液到结合柱中, 包含所形成的沉淀物, 室温 13,000xg 离心 15 s, 弃滤液及收集管;

**# 可选 DNase I 消化步骤 (需另购 DNase I Set 货号 E1091)**

如需使用 DNase I 对 DNA 污染进行消解, 请参考第 8 页“DNase I 消化步骤”。  
如无需进行 DNA 消解, 请接着按第 6 步操作;

6. 将 MicroElute<sup>®</sup> RNA Mini Column 套入收集管中, 加入 500 $\mu$ L RWF Wash Buffer 至结合柱中, 10,000xg 离心 30s, 弃滤液;
7. 将 MicroElute<sup>®</sup> RNA Mini Column 套回收集管中, 加入 500 $\mu$ L RNA Wash Buffer II 至结合柱中, 10,000xg 离心 1min, 弃滤液;  
# 注意: RNA Wash Buffer II 在使用前必须按照说明书用无水乙醇进行稀释。
8. 重复步骤 7;
9. 将 MicroElute<sup>®</sup> RNA Mini Column 套回收集管中, 10,000xg 离心空甩 2min。
10. 将 MicroElute<sup>®</sup> RNA Mini Column 套入新的 1.5mL 离心管中, 加入 15-20 $\mu$ L Nuclease-free Water 至结合柱中, 10,000xg 离心 1min 洗脱 RNA, 产物放置 -70 $^{\circ}$ C 保存。

## ★ 提取步骤 —— 显微解剖甲醛固定组织样品

根据样品固定方式，保存条件，染色方法以及保存时长，RNA 可能已经被高度降解成 < 300nt 的片段。因为总 RNA 分离方案是会去除 < 200nt 的片段，如果样品被高度降解，这将会导致 RNA 整体丢失。

### ★ 用户自备仪器及耗材：

- ✓ 离心转速可达 13,000xg 的小型离心机
- ✓ 涡旋仪
- ✓ 温度可达 55°C 的加热装置
- ✓ 无酶吸头、1.5mL 及 2mL 离心管
- ✓ 无水乙醇、14.3 M 2-巯基乙醇、Proteinase K(20 mg/mL)
- ✓ 匀浆工具（如针管针头、研钵、研磨珠、珠磨机、定转子均质仪等）
- ✓（可选）真空抽滤装置、DNase I 消化套装

1. 在 1.5 或 2 mL 离心管中加入 100  $\mu$ L TRK Lysis Buffer。  
# **注意：**使用前 1mL TRK Lysis Buffer 需要加 20 $\mu$ L 2-巯基乙醇；  
# **可选：**如果细胞量 < 5,000 个，在匀浆前加入 4 $\mu$ L Carrier RNA Stock Solution (5ng/ $\mu$ L)。
2. 把已经按照第 2-3 页的方法匀浆均质化的样品转移到离心管中；
3. 使用 TRK Lysis Buffer 把样品体积补足到 150 $\mu$ L，涡旋混匀 30s；
4. 加入 295  $\mu$ L Nuclease-free Water 和 5  $\mu$ L Proteinase K(20 mg/mL)，55°C 孵育 10 min；
5. 室温 13,000xg 离心 5min，转移上清（~450  $\mu$ L）到新的离心管；  
# **注意：**小心转移上清液，如果表面形成薄膜层，用移液枪枪头尖端挑开薄膜层再吸取。
6. 加入 0.5 上清体积的无水乙醇，涡旋混匀；
7. 将 MicroElute® RNA Mini Column 套入收集管中，转移第 6 步得到的混合液到结合柱中，包含所形成的沉淀物，室温 13,000xg 离心 15 s，弃滤液及收集管；

8. 按照第 4 页“激光解剖样品”的步骤 6-10 进行操作。如需进行 DNase I 消化请按照第 8 页步骤进行。

## ★ 提取步骤 —— 组织和培养细胞样品

### ★ 用户自备仪器及耗材：

- ✓ 离心转速可达 13,000xg 的小型离心机
- ✓ 涡旋仪
- ✓ 无酶吸头、1.5mL、2mL 离心管
- ✓ 无水乙醇、70%乙醇（由无酶水配置）、14.3 M 2-巯基乙醇
- ✓ 匀浆工具（如针管针头、研钵、研磨珠、珠磨机、定转子均质仪等）
- ✓ （可选）真空抽滤装置、DNase I 消化套装

1. 确定样品起始量并匀浆样品，组织样品 < 5 mg，细胞 <  $5 \times 10^5$  个；
2. 按照第 2-3 页描述的方法对样品进行裂解均质化；
3. 在 1.5 mL 或 2 mL 离心管中加入 350  $\mu$ L TRK Lysis Buffer；  
# **注意：**使用前 1mL TRK Lysis Buffer 需要加 20  $\mu$ L 2-巯基乙醇；  
# **可选：**如果细胞量 < 5,000 个，在匀浆前加入 4  $\mu$ L Carrier RNA Stock Solution (5ng/ $\mu$ L)。
4. 把匀浆均质化的样品加到含 TRK Lysis Buffer 的离心管中，涡旋混匀 30 s；
5. 室温 13,000xg 离心 2min，转移上清到新的离心管；
6. 加入 1 体积的 70%乙醇，涡旋混匀，请勿进行离心或瞬时离心；  
# **注意：**加入乙醇后可能会形成沉淀，需把沉淀打散再过柱，否则容易造成堵柱情况。
7. 将 MicroElute<sup>®</sup> RNA Mini Column 套入收集管中，转移第 6 步得到的混合液到结合柱中，包含所形成的沉淀物，室温 13,000xg 离心 15 s，弃滤液及收集管；
8. 按照第 4 页“激光解剖样品”的步骤 6-10 进行操作，如需进行 DNase I 消化请按照第 8 页步骤进行。

## ★ 提取步骤 —— 纤维组织样品

### ★ 用户自备仪器及耗材：

- ✓ 离心转速可达 13,000xg 的小型离心机
- ✓ 涡旋仪
- ✓ 温度可达 55°C的加热装置
- ✓ 无酶吸头、1.5mL 及 2mL 离心管
- ✓ 无水乙醇、14.3 M 2-巯基乙醇、Proteinase K(20 mg/mL)
- ✓ 匀浆工具 (如针管针头、研钵、研磨珠、珠磨仪、定转子均质仪等)
- ✓ (可选) 真空抽滤装置、DNase I 消化套装

1. 称量 < 5mg 的组织立刻放进在 1.5 mL 或 2 mL 离心管中，加入 150  $\mu$ L TRK Lysis Buffer；
2. 按照第 2-3 页描述的方法对组织进行裂解均质化；  
**# 注意：**组织不完全裂解会导致堵柱，从而导致产量降低。一般来说，使用研钵研磨或者注射器匀浆得到的产量会比较低，建议使用机械匀浆仪或者珠磨仪进行匀浆裂解。
3. 加入 290  $\mu$ L Nuclease-free Water 和 5  $\mu$ L Proteinase K(20 mg/mL)，55°C 孵育 10 min；
4. 室温 13,000xg 离心 5min，转移上清到新的离心管；  
**# 注意：**小心转移上清液，如果表面形成薄膜层，用移液枪枪头尖端挑开薄膜层再吸取。
5. 加入 0.5 体积的无水乙醇，涡旋混匀；
6. 将 MicroElute<sup>®</sup> RNA Mini Column 套入收集管中，转移第 5 步得到的混合液到结合柱中，包含所形成的沉淀物，室温 13,000xg 离心 15 s，弃滤液及收集管
7. 按照第 4 页“激光解剖样品”的步骤 6-10 进行操作，如需进行 DNase I 消化请按照第 8 页步骤进行。

## ★ DNase I 消化步骤 (可选步骤)

### 用户自备试剂：DNase I Digestion Set (货号 E1091)

按照上述《激光解剖样品提取步骤》完成 1-5 步；《显微解剖甲醛固定组织样品提取步骤》完成 1-7 步；《组织和培养细胞样品提取步骤》完成 1-7 步；《纤维组织样品提取步骤》完成 1-6 步后，请按以下步骤操作：

1. 每一个 MicroElute<sup>®</sup> RNA Mini Column，按照按下表配置 DNase I 溶液：

溶液名称	每份配量
Digestion Buffer	73.5 $\mu$ L
RNase-Free DNase I	1.5 $\mu$ L
总量	75 $\mu$ L

### # 重要提示：

- ✓ DNase I 非常敏感且易发生物理变性，切勿大力涡旋 DNase I 溶液。建议轻柔颠倒离心管进行混匀；
- ✓ DNase I 混合液需现配现用；
- ✓ 请使用套装内配套的 Digestion Buffer 消化液，其他消化液与膜上消化操作不配套，可能会降低 RNA 产量及纯度；
- ✓ 全部操作均在室温下进行，请谨慎且尽量快速地操作。

2. 将 MicroElute<sup>®</sup> RNA Mini Column 套入 2ml 收集管中，往结合柱加入 250 $\mu$ L RWF Wash Buffer，10,000 $\times$ g 室温离心 1min，弃掉滤液；
3. 将配置好的 75 $\mu$ L 的 DNase I 溶液，转移至 MicroElute<sup>®</sup> RNA Mini Column 膜的正中央，切勿打到结合柱壁；
4. 室温静置 15min；
5. 加入 250 $\mu$ L RWF Wash Buffer 至 MicroElute<sup>®</sup> RNA Mini Column 中，室温静置 2min，10,000 $\times$ g 离心 1min，弃滤液；
6. 将 MicroElute<sup>®</sup> RNA Mini Column 套回收集管中，加入 500 $\mu$ L RNA Wash Buffer II 至结合柱中，10,000 $\times$ g 离心 1min，弃滤液；

# **注意：**RNA Wash Buffer II 在使用前必须按照说明书用无水乙醇进行稀释。



7. 重复步骤 6;
8. 将 MicroElute<sup>®</sup> RNA Mini Column 套回收集管中, 10,000xg 离心空甩 2min。
9. 将 MicroElute<sup>®</sup> RNA Mini Column 套入新的 1.5mL 离心管中, 加入 15-20  $\mu$  L Nuclease-free Water 至结合柱中, 10,000xg 离心 2min 洗脱 RNA, 产物放置-70°C 保存。

## ★ 提取步骤示意图

### 离心操作流程

### 真空抽滤操作流程



匀浆  
裂解



匀浆  
裂解



离心去除杂质



离心去除杂质



转移上清  
调节结合条件  
并转移到结合柱内



转移上清  
调节结合条件  
并转移到结合柱内



离心方式  
结合  
洗涤



真空抽滤方式  
结合  
洗涤



干燥



干燥



洗脱



洗脱



## ★ 产品信息卡



更多详情，请扫描左方二维码获取原文说明书

中文翻译仅供辅助阅读



常见问题合集及操作注意事项

请扫描左方二维码获取



中国总代理：广州飞扬生物工程有限公司

技术支持：020-32051125

企业 QQ：800848200（人工客服在线）

中文网站：[omegabiotek.com.cn](http://omegabiotek.com.cn)

如需查询代理商名录，请关注“飞扬生物”微信号获取

### 售后保障服务说明

为确保您所使用的试剂为正品来源，请从使用单位所在地指定代理商处购买 Omega bio-tek 产品。由其他渠道购买或任一标签信息(应包括货号、条形码、完整 Lot 号、失效日期)缺失的试剂盒，我司恕不提供任何质量保证及售后服务。