

## TransZol Up Plus RNA Kit

使用前请仔细阅读说明书

目录号: ER501

版本号: Version 2.0

保存: 试剂盒中TransZol Up在2-8°C避光保存一年, 其余在室温(15°C-25°C)干燥条件下保存一年。

### 产品说明

本试剂盒适用于从细胞和组织中提取总RNA, 用TransZol Up裂解样品, 加入RNA Extraction Agent后, 溶液分为无色水相和粉红色有机相, RNA在水相中; 用硅胶膜离心柱特异吸附水相中的RNA, 与其它总RNA提取方法相比, 既具有TransZol Up裂解能力强、提取量高, 应用范围广的优点, 又具有离心柱提取RNA纯度高的优点。

### 特点

- **操作安全性高:** 使用RNA Extraction Agent替代了氯仿。
- **应用范围广:** 动物、植物组织、病毒和细菌等样品。小量样品(50-100 mg组织、 $5 \times 10^6$  细胞、200  $\mu$ l血液)。大量样品( $\geq 1$  g 组织或 $\geq 10^7$ 细胞), 离心柱的最大吸附量为100  $\mu$ g。
- **裂解能力强:** 裂解充分、速度快, 提取量高。
- **提取速度快:** 一个小时内可完成。
- **操作可视化:** 溶液呈粉红色, 便于分离水相。
- **提取纯度高:** DNA和蛋白质的污染最低。

### 试剂盒组成

Component	ER501-01-V2 (100 rxns)
TransZol Up	100 ml
RNA Extraction Agent	20 ml
Clean Buffer 9 (CB9)	110 ml
Wash Buffer 9 (WB9)	24 ml
RNase-free Water	40 ml
RNase-free Tube (1.5 ml)	100个
RNA Spin Columns with Collection Tubes	100个

### 操作步骤

请提前将低温离心机调至2-8°C, WB9使用前加入96 ml的无水乙醇。

准备试剂: 无水乙醇。

#### 1、匀浆处理

##### a、贴壁培养细胞

- 倒出培养液, 用1 $\times$ PBS漂洗一次。
- 每10 cm<sup>2</sup>生长的培养细胞中加入1 ml的 TransZol Up, 水平放置片刻, 使裂解液均匀分布于细胞表面并裂解细胞, 然后使用移液枪吹打细胞使其脱落(对于贴壁牢固的培养细胞可用细胞刮勺剥离细胞)。
- 将细胞裂解液转移至离心管中, 加入0.2 ml RNA Extraction Agent, 用移液枪反复吹吸直至裂解液中无明显沉淀。
- 室温涡旋振荡5分钟。

##### b、菌液、悬浮培养细胞

- 将菌液或悬浮培养细胞连同培养液一起倒入离心管中, 8,000  $\times$ g 2-8°C离心2分钟, 弃上清。
- 加入TransZol Up (每 $\leq 2 \times 10^9$ 个细菌或 $\leq 1 \times 10^7$ 个细胞中加入1 ml TransZol Up)。
- 加入0.2 ml RNA Extraction Agent, 用移液枪反复吹吸直至裂解液中无明显沉淀。
- 室温涡旋振荡5分钟。



#### c、血液样品

- 加入 *TransZol Up* (每 $\leq 200$   $\mu\text{l}$ 血液中加入1 ml *TransZol Up*, 建议血液量不低于50  $\mu\text{l}$ )。
- 加入0.2 ml RNA Extraction Agent, 用移液枪充分吹吸混匀。
- 室温涡旋振荡5分钟。

#### d、动物、植物样品

- 将超低温冷冻的样品称量后, 迅速转移至用液氮预冷的研钵中, 用研杵充分研磨直至研磨成粉末状, 其间可以补加液氮。如果没有研磨彻底会影响RNA的提取量和质量。
- 将研磨成粉末状的样品转移至离心管中, 每50-100 mg样品加入1 ml *TransZol Up*和0.2 ml RNA Extraction Agent, 用匀浆仪进行匀浆处理, 或用枪反复吹吸混匀。
- 室温涡旋振荡5分钟。

2、10,000 $\times$ g 2-8 $^{\circ}\text{C}$ 离心15分钟。此时样品分成三层, 无色的水相(上层), 中间层, 粉红色有机相(下层)。RNA在水相中, 水相体积约为所用*TransZol Up*试剂的50%-60%(为了避免吸到中间层导致DNA污染, 可以适当留下一部分水相)。

3、转移无色的水相于新的离心管中, 加入等体积的无水乙醇(此时可能会出现沉淀), 轻轻颠倒混匀。

此后离心均可在室温中进行。

- 4、将得到的溶液和沉淀一起加入离心柱中, 12,000 $\times$ g 室温离心30秒, 弃掉流出液(如果体积大于离心柱容量, 可以分几次完成)。
- 5、加500  $\mu\text{l}$  CB9, 室温12,000 $\times$ g离心30秒, 弃掉流出液。
- 6、重复步骤5一次。
- 7、加入500  $\mu\text{l}$  WB9(使用前请先检查是否加入无水乙醇), 室温12,000 $\times$ g离心30秒, 弃掉流出液。
- 8、重复步骤7一次。
- 9、室温12,000 $\times$ g 离心2分钟, 彻底去除残留的乙醇。
- 10、将离心柱放入RNase-free Tube(试剂盒已配)中, 加50-200  $\mu\text{l}$  RNase-free Water 在离心柱的中央, 室温静置1分钟。
- 11、室温12,000 $\times$ g 离心1分钟, 洗脱RNA。  
(可选步骤: 为获得更多RNA时, 建议重复步骤10和11进行二次洗脱)。
- 12、将RNA置于-80 $^{\circ}\text{C}$ 保存。

#### 注意事项

- 加入RNA Extraction Agent后, 一定要充分振荡, 确保抽提效果。
- 实验所用有机试剂(无水乙醇等), 要确保无RNase污染, 所用耗材如离心管、枪头也要确保RNase free。
- 离心柱吸附能力强(约100  $\mu\text{g}$ ), 但是RNase-free Water的洗脱能力有限, 故上样量大时建议进行二次洗脱。
- 推荐使用RNA Extraction Agent进行RNA抽提, 亦可使用氯仿来替代RNA Extraction Agent。

本产品仅供研究, 不用于临床诊断。

版本号: V2.0-202203

服务投诉电话 +86-10-57815020

服务投诉邮箱 [complaints@transgen.com.cn](mailto:complaints@transgen.com.cn)

