

Gebrauchsanweisung



ROTI® Quick-Kit

Zur Isolierung von **gesamtRNA** aus Zellen und Gewebe

Säulenunabhängiges, äußerst flexibles Isolationssystem zur zuverlässigen Isolation von gesamtRNA aus praktisch jedem Gewebe.

- Einfache, äußerst flexible Anwendung
- Hohe Ausbeute intakter, sehr reiner gesamtRNA
- Säulenunabhängige 1-Schritt Isolation
- Auf nahezu jedem Gewebe anwendbar

Geeignet zur Anwendung auf:

- Säuger- und nicht-Säugergewebe
 - Zellkulturmaterial
 - Biopsien
 - stark fett- oder proteinhaltigem Gewebe
 - sehr festem Pflanzenmaterial und vielem mehr.
- Kann auf frischem Gewebe und auf gefrorenem Material angewendet werden.

Carl Roth GmbH + Co. KG

Schoemperlenstraße 3-5 • 76185 Karlsruhe
Postfach 100121 • 76231 Karlsruhe
Telefon: +49 (0) 721/ 5606-0
Fax: +49 (0) 721/ 5606-149
info@carlroth.de • www.carlroth.de

ip 07/2021

Die Firma ist eine Kommanditgesellschaft mit Sitz in Karlsruhe, Reg. Gericht Mannheim HRA 100055. Persönlich haftende Gesellschafterin ist die Roth Chemie GmbH mit Sitz in Karlsruhe, Reg. Gericht Mannheim HRB 100428. Geschäftsführer: André Houdelet

Kitbestandteile

ROTI® Quick 1 (A976)

Gefahr H302+H332-H314-H412-EUH032-EUH208

ROTI® Quick 2 (A977)

Gefahr H301+H311+H331-H314-H341-H351-H361d-H372-H411

ROTI® Quick 3 (A978)

Gefahr H225-H319-H336

Die Einzelbestandteile dieses Kits können nicht separat nachgekauft werden.

Lagertemperatur: Alle Lösungen bei 4 °C lagern.

Methode:

Der ROTI® Quick-Kit basiert auf der GITC-Isolationmethode von Chomczynski und Sacchi¹. Nach der Homogenisierung des Gewebes wird in einem einzigen Schritt die RNA aufgereinigt und dann durch Fällung isoliert.



Zeitaufwand pro Isolation:

Ca. 2,5 Stunden, hierbei können problemlos mehrere Isolationen parallel durchgeführt werden.

Up-/Downscaling:

Optimiert für die RNA-Isolation aus ca. 0,2 g Gewebe oder Zellmaterial. Bei anderen Gewebemengen werden die verwendeten Mengen proportional umgerechnet.

Isolierte RNA:

Die isolierte gesamtRNA ist hochrein und kann direkt in alle gängigen *down-stream* Applikationen, z.B. RT-PCR, Northern-Blotting, Reverse Transkription, eingesetzt werden.

Anleitung

Ein ROTI® Quick-Kit ist ausgelegt für 20 Isolationen aus 0,2 g Gewebe. Bei anderen Mengen Ausgangsmaterial sind die Volumina entsprechend anzugleichen.

Alle verwendeten Materialien müssen RNase-frei sein

(DEPC-Behandlung oder Erhitzen auf 180 °C).

1. **Gewebe:** Homogenisieren Sie in Stickstoff gefrorenes Gewebe in 2,0 ml ROTI® Quick 1
Zellkulturmaterial: Lösen Sie die Zellen in der Flasche mit dem Zellschaber und nehmen Sie die Zellen direkt in 2,0 ml ROTI® Quick 1 auf. Scheren Sie die Zellsuspension mit Hilfe einer Spritze in einer Kanüle.
2. Fügen Sie 2,6 ml 4 °C kaltes ROTI® Quick 2 zu und mischen Sie den Ansatz auf dem Vortex.
Bitte beachten: Bringen Sie ROTI® Quick 2 unmittelbar vor dem Gebrauch durch Schütteln in eine homogene Mischung (während der Lagerung bilden sich zwei Phasen).
3. Inkubieren Sie den Ansatz für 10 Min. auf Eis.
4. Zentrifugieren Sie den Ansatz bei 10.000 rpm für 15 Min. bei 4 °C.

5. Nehmen Sie die obere wässrige Phase ab und bewahren Sie die untere Phase zur Kontrolle auf. Fügen Sie zu der oberen Phase 2,0 ml ROTI®Quick 3 zu und mischen Sie durch Kippen oder schütteln.

Bitte beachten: Trennen sich die Phasen nicht gut auf (z.B. bei Extraktion aus Fettgewebe) sollten die Schritte 2-4 mit 1 Vol. ROTI®Quick 2 wiederholt werden. Eine saubere Phasentrennung ist die Grundvoraussetzung für eine reine, isolierte RNA.

6. Inkubieren Sie den Ansatz für 40 Min. bei -20 °C (oder für 10 Min. bei -80 °C)
7. Zentrifugieren Sie den Ansatz bei 10.000 rpm für 15 Min. bei 4 °C.
8. Nehmen Sie den Überstand nach der Zentrifugation ab und nehmen Sie das RNA-Pellet in 600 µl ROTI®Quick 1 und 600 µl ROTI®Quick 3 auf.
9. Inkubieren Sie den Ansatz erneut für 30 Min. bei -20 °C oder für 10 Min. bei -80 °C.
10. Sedimentieren Sie die RNA durch Zentrifugation bei 4 °C bei ca. 13.000 rpm (20 Min.).
11. Geben Sie 1 ml 70 %iges Ethanol auf das RNA-Pellet (erstes Waschen).
12. Zentrifugieren Sie bei 4 °C (13.000 rpm, 5 Min.).
13. Wiederholen Sie die Schritte 11 und 12 (zweites Waschen).
14. Entfernen Sie das Ethanol **vollständig** vom Pellet. Kurz anzentrifugieren (4 °C) und Ethanolreste abpipettieren.
15. Nehmen Sie die RNA in ca. 200 µl autoklaviertem DEPC-Wasser auf.
16. Optional: Quantifizierung bei 260 nm
Die übliche Ausbeute liegt bei $OD_{260/280} \geq 2,0$.

Zusätzlich benötigte Reagenzien

70 % Ethanol (Best.Nr. T868)
DEPC-behandeltes Wasser (Best.Nr.: T143)
DEPC (Best. Nr. K028)

Literatur

¹ Chomczynski P. and Sacchi N. (1987) Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal. Biochem.* 162:156

ROTI®Quick-Kit

A979.1

Instructions for use



ROTI® Quick-Kit

For Isolation of total RNA from Cells and Tissues

Column-free, very versatile isolation system for reliable isolation of total RNA from nearly every type of tissue.

- Easy, most versatile application
- High recovery rate of intact, very pure total RNA
- Column-free one-step isolation
- Applicable on nearly each tissue type

Suitable for application on:

- Mammalian and non-mammalian tissue
- Cell culture material
- Biopsies
- Fat- or protein rich tissue
- Very hard plant material, and so on.

May be used on fresh as well as on frozen material.

Carl Roth GmbH + Co. KG

Schoemperlenstraße 3-5 • 76185 Karlsruhe
P.O. Box 100121 • 76231 Karlsruhe
Phone: +49 (0) 721/ 5606-0
Fax: +49 (0) 721/ 5606-149
info@carlroth.com • www.carlroth.com ip 07/2021

The company is a limited partnership with headquarters in Karlsruhe, reg. court Mannheim HRA 100055. Roth Chemie GmbH, with headquarters in Karlsruhe, reg. court Mannheim HRB 100428, is the personally liable partner. Managing Director: André Houdelet. Sales tax identification number: DE 143621073.

Kit Contents

ROTI® Quick 1 (A976)

Danger H302+H332-H314-H412-EUH032-EUH208

ROTI® Quick 2 (A977)

Danger H301+H311+H331-H314-H341-H351-H361d-H372-H411

ROTI® Quick 3 (A978)

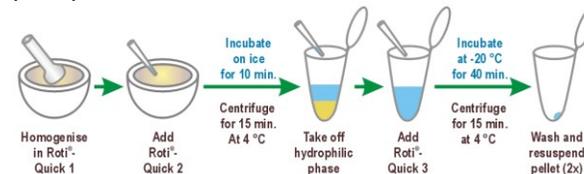
Danger H225-H319-H336

Contents of this Kit may not be bought separately.

Storage Temperature: Store all solutions at 4 °C.

Method:

This ROTI® Quick-Kit is based on the well-known GITC-method published by Chomczynski und Sacchi¹. Following homogenisation of tissues, RNA is purified in one single step and is then isolated by precipitation.



Time necessary for isolation:

Approx. 2.5 hours; several isolations may easily be performed in parallel.

Up-/Downscaling:

Optimised for RNA isolation from approx. 0.2 g tissue or cell material. In case other amounts shall be used for isolation, please recalculate amounts proportionally.

Isolated RNA:

Isolated total RNA is very pure and may be applied directly to all standard down-stream applications, like e.g. RT-PCR, Northern-Blotting, Reverse Transcription etc.

Protocol

Volumes of solutions given below apply to 0.2 g cell material. In case you have other amounts of cell material please up- or downscale solutions in relation to the amount used.

Please make sure that all materials used are made RNase free (by DEPC-treatment or by heating to 180 °C).

1. **Solid tissue:** Homogenize N₂-frozen tissue in 2.0 ml Quick solution 1
Cell culture cells: Scrape cells from the bottom of culture bottles and suspend cells in 2.0 ml Quick solution 1
Shear cell suspension with a needle using a syringe.
2. Add 2.6 ml 4 °C chilled Quick solution 2 and vortex thoroughly.
Note: Immediately before use, shake Quick solution 2 until mixture is homogenous (2 phases separate when stored).
3. Incubate on ice for 10 mins.
4. Centrifuge at 10.000 rpm for 15 mins. at 4 °C.
5. Pipette the upper aqueous layer into a fresh reaction tube and keep the lower phase for control.

Add 2.0 ml of solution 3 to the upper phase.

Note: In case phases do not separate efficiently (e.g. during extraction from tissue containing fat), steps 2-4 should be repeated using 1 vol. ROTI®Quick 2. Clear phase separation is necessary for pure, isolated RNA.

6. Incubate at -20 °C for 40 mins. or at -80 °C for 10 mins.
7. Centrifuge at 10.000 rpm for 15 mins. at 4 °C.
8. Remove supernatant, resuspend RNA pellet in 600 µl Quick sol. 1 plus 600 µl Quick sol. 3.
9. Incubate at -20 °C for 30 mins. or at -80 °C for 10 mins.
10. Sediment RNA by centrifugation at 4 °C (13.000 rpm, 20 mins.).
11. Add 1 ml 70 % ethanol to the RNA pellet (first wash).
12. Centrifuge at 4 °C (13.000 rpm, 5 mins.).
13. Repeat steps 11 and 12 (second wash).
14. Remove ethanol **completely** from the pellet. Centrifuge shortly (4 °C) and remove all residual ethanol.
15. Dissolve RNA pellet in ca. 200 µl autoclaved DEPC-water.
16. Optional: Quantitation at 260 nm
Standard results are $OD_{260/280} \geq 2,0$.

Additionally Required Reagents

70 % Ethanol (Art. No. T868)
DEPC-treated Water (Art. No. T143)
DEPC (Art. No. K028)

Literature

¹ Chomczynski P. and Sacchi N. (1987) Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal. Biochem.* 162:156)

ROTI®Quick-Kit

A979.1