

FastPure RNA Cleanup and Recovery Kit Handbook

FastPure RNA 纯化回收试剂盒说明书

产品组成

FastPure RNA Cleanup and Recovery Kit		
产品编号	EK-1103-50T	EK-1103-100T
纯化次数	50 次	100 次
Buffer RLT	20ml	40ml
Buffer RPE	12ml	24ml
RNase-free Water	10ml	20ml
RNase-free 吸附柱	50	100
2 ml 收集管	50	100
使用手册	1	1

产品介绍

本试剂盒可以快速地从小液样本中回收 RNA，回收的 RNA 可用于 RT-PCR、qPCR、cDNA 合成、引物延伸、芯片分析、Northern Blot、Dot Blot、Slot Blot、Poly A 筛选、体外翻译、RNase 保护分析和分子克隆等多种下游实验。本产品仅供科研使用，请勿用于医药、临床治疗、食品级化妆品等用途。

存储条件

室温干燥保存可至少稳定 12 个月。

需要额外准备的材料

- 无水乙醇 (96%-100%)
- 无 RNase 酶的 1.5ml 离心管
- 无 RNase 酶的枪头
- 干净的手套
- 高速离心机

开始前注意事项 请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项。

- Buffer RLT 在储存时可能会形成沉淀，如果有沉淀出现，请 37°C 加热溶解后室温使用。
- Buffer RPE 作为浓缩液提供，在第一次使用前加入 4 倍体积的乙醇 (96-100%) 以获得工作溶液。
- RNase-free 水中不含任何抑菌因子，室温放置或操作时可能会引入细菌或真菌污染，使用时尽量注意，推荐开瓶后分装保存以减少污染风险保证实验稳定性。
- RNA 在 Buffer RLT 中时不会被 RNase 降解 (提取过程中)，但提取后继续处理过程中应使用不含 RNase 的无酶离心管或玻璃器皿。

操作步骤:

1. 取 100 μ L 样品 (不足部分用 RNase-free Water 补足), 加入 350 μ L Buffer RLT 充分混匀。

样品体积较大时, 按 1:3.5 比例加入 Buffer RLT。若含细胞, 需室温静置 1-2 分钟以充分裂解; 若有明显杂质, 需 12000 \times g 离心取上清使用。

2. 往混匀的样品加入 250 μ L 无水乙醇 (96-100%) 混匀, 并通过反复吹打混匀。不要离心, 并立即进行下一步。

若样品体积较大, 则等比例加入无水乙醇。

3. 将步骤 2 混匀后的溶液转移入 RNase-free 吸附柱中并套上 2ml 收集管, $\geq 8000\times g$ 离心 30s, 弃废液。

吸附柱最大上柱量为 700 μ L, 若溶液过多可分多次上柱。后续操作若无特殊说明吸附柱均置于 2ml 收集管中。

4. 向吸附柱中加入 500 μ L Buffer RPE (使用前请确认 Buffer RPE 是否按要求加入 4 倍体积无水乙醇), $\geq 8000\times g$ 离心 30s, 弃废液。

5. 重复步骤 4 一次。

6. 倒弃滤液, 将吸附柱放入收集管中, 以最大转速($\sim 13,400\times g$)离心 3min 干燥柱膜。

7. 将吸附柱套入新的无酶 1.5ml 离心管管中, 并置于无酶的环境中开盖静置 5-10min 至乙醇晾干。

若吸附柱中残留乙醇将会对纯化后的 RNA 的下游实验造成影响。

8. 向吸附柱膜正中央加入 50-100 μ L RNase-free Water, 盖上盖子室温静置 3-5 min。后置于离心机中 $\geq 12,000\times g$ 离心 3min 得到 RNA 溶液。

RNA 洗脱体积不应少于 30 μ L, 否则影响洗脱效率。洗脱后的 RNA 溶液应置于 -80°C 储存。

RNA 纯度及浓度检测

纯度: OD260/OD280 比值是衡量蛋白质污染程度的指标。高质量的 RNA, OD260/OD280 读数在 1.8-2.1 之间, 比值为 2.0 是高质量 RNA 的标志。OD260/OD280 读数受测定所用溶液的 pH 值影响。同一个 RNA 样品, 假定在 10 mM Tris pH7.5 溶液中测出的 OD260/OD280 读数 1.8-2.1 之间, 在水溶液中所测读数则可能在 1.5-1.9 之间, 但这并不表示 RNA 不纯。

浓度: 取一定量的 RNA 提取物, 用 RNase-free ddH₂O 稀释 n 倍, 用 RNase-free ddH₂O 将分光光度计调零, 取稀释液进行 OD260, OD280 测定, 按照以下公式进行 RNA 浓度的计算:

$$\text{终浓度 (ng/}\mu\text{L)} = (\text{OD260}) \times (\text{稀释倍数 } n) \times 40$$