

FastPure Serum/Plasma RNA Extraction Kit Handbook

FastPure 血清/血浆 RNA 提取试剂盒说明书

产品组成

FastPure Serum/Plasma RNA Extraction Kit		
产品编号	EK-1320-50T	EK-1320-100T
纯化次数	50 次	100 次
Buffer ML2	6ml	12ml
Buffer RP1	1.8ml	3.6ml
Buffer RWT	15ml	30ml
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

本试剂盒是最新一代的无毒无酚提取 RNA 的方法，可以快速地从小量血浆及血清中提取包括 miRNA 在内的无细胞总 RNA。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

试剂室温干燥保存可至少稳定 12 个月

需要额外准备的材料

- 100%异丙醇
- 无水乙醇
- 80%乙醇（RNase-free 水配制）
- 无 RNase 酶的 1.5ml/2ml 离心管
- 无 RNase 酶的吸头
- 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 ML2 和 Buffer RWT 作为浓缩液提供可能会形成沉淀，如果有沉淀出现请 37-56°C 加热溶解后室温使用。
- Buffer RWT 作为浓缩液提供，在第一次使用前加入 2 倍体积的乙醇（96-100%）以获得工作溶液。
- 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。
- 若要处理冷冻血清/血浆样品，请在 37°C 的水浴中孵育，直到样品完全解冻并溶解。尽量避免长时间孵育，否则可能会损害 RNA 的完整性。

操作步骤:**1. 准备血清或血浆或解冻冷冻样品。**

注意：样本最优是新鲜获取，或者-80°C储存；长时间样本即使-80°C储存亦有降解的风险与可能。不应使用含有肝素抗凝剂的样本，可能会影响下游 RT-PCR 反应结果。

2. 将 200µl 血清或血浆转移到 1.5/2ml 无酶离心管中。

注意：若需要提取更多体积的样本，后续试剂按比例增加。建议使用 1.5ml 尖底离心管更有利于沉淀聚集。

3. 加入 100µl Buffer ML2，关闭管盖并涡旋>5 秒。在室温下孵育 3-5 分钟。

注意：可以通过涡旋振荡并在室温下孵育 3 分钟来促进样品裂解，若无条件静置亦可。

4. 加入 30µl Buffer RP1，关闭管盖并通过涡旋剧烈混合>20 秒。在室温下孵育 3 分钟。

注意：彻底混合对于后续的相分离很重要。Buffer RP1 加入后产生沉淀为正常现象。

5. 在室温下以 12000×g 离心 3 分钟。

注意：上清液应为透明无色。

6. 取上清液（约 280µl）转移到新的离心管中。

注意：注意勿吸取到沉淀，沉淀为蛋白质复合物。

7. 加入 1 倍体积异丙醇，涡旋 10-20 秒充分混匀。

注意：加入 1 倍体积异丙醇更有助于 microRNA 提取，如 280µl 上清则加入 280µl 异丙醇。

8. 将全部样品转移到 RNA 吸附柱中。盖上盖子，以≥8000×g 离心 15-30 秒。丢弃滤液。**9. 将 700µl Buffer RWT（使用前请确认 Buffer RWT 是否按要求加入 2 倍体积无水乙醇）加入到 RNA 吸附柱中。盖上盖子，以≥8000×g 离心 15-30 秒。丢弃滤液。****10. 将 500µl 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）加入到 RNA 吸附柱中。盖上盖子，以≥8000×g 离心 15-30 秒。丢弃流出物。****11. 向 RNA 吸附柱中加入 500µl 80%乙醇。盖上盖子，以≥8000×g 离心 2 分钟。丢弃****滤液。**

注意：RNA 吸附柱内柱取出倒滤液时注意不要接触滤液，防止乙醇残留影响后续结果。

12. 将 RNA 吸附柱内柱放回收集管中。打开离心柱的盖子，最大转速≥12000×g 离心 3-5 分钟以干燥柱膜。丢弃滤液和收集管。

注意：最大转速应不低于 12,000×g

13. 将 RNA 吸附柱内柱转入新的无酶 1.5ml 离心管中，并置于无酶的环境中开盖静置 5-10min 至乙醇晾干。

注意：干燥离心柱膜很重要，因为残留的乙醇可能会干扰下游反应

14. 向吸附柱膜正中央加入 20-30µl RNase-free Water，盖上盖子并静置 1-2 分钟。后置于离心机中 ≥12,000×g(≥13,000 rpm) 离心 3min 得到 RNA 溶液。

注意：如果需要更高的 RNA 浓度，可适当减少 RNase-free water 洗脱，但离心下来的体积可能会降低导致总产量降低，因为离心柱膜不能充分水合。洗脱液洗脱后的 RNA 溶液应置于-80°C储存。