

FastPure 10 minutes Rapid RNA Extraction Kit Handbook

FastPure 10 分钟快速总 RNA 提取试剂盒说明书

产品组成

FastPure 10 minutes Rapid RNA Extraction Kit		
产品编号	EK-1328-50T	EK-1328-100T
纯化次数	50 次	100 次
Buffer RFL	40mL	80mL
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

本试剂盒采用优化的离液盐裂解体系与硅胶柱纯化技术，专为从细胞、组织、全血及细菌等多种样本中快速提取总 RNA 而设计。独特的 Buffer RFL 具有极强的 RNase 抑制能力，确保在 10min 内获得高质量、高完整性的 RNA。所得产品可直接用于 RT-PCR、qPCR 等实验。

存储条件

室温干燥保存可至少稳定 24 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
- 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 RFL 在储存时可能会形成沉淀，如果有沉淀出现，请 37-56°C 加热溶解后室温使用。
- Buffer 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 RFL 中时不会被 RNase 降解（短时操作过程中）。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. 请根据样品种类进行以下步骤**

- a. 收集动物细胞: 悬浮细胞离心后留下细胞团块和适量上清 (200 μ L/2 \times 10⁶ 细胞), 充分震荡直至没有细胞团块 (重要), 取 200 μ L 放入无酶离心管中备用。若是贴壁细胞则消化收集细胞后用 200 μ L PBS 重悬。

注意: 收集细胞数量不要超过 5 \times 10⁶, 收集细胞时一定要将细胞培养基去除干净, 否则会导致细胞裂解不完全影响 RNA 与吸附柱的结合, 导致 RNA 的产量降低。

- b. 动物组织: 将 10mg-30mg 动物组织转移入 1.5mL 无酶离心管中并加入 350 μ L Buffer RFL (动物组织量不超过 30mg, 可根据组织量增加裂解液用量), 使用研磨杵或电动研磨机将动物组织彻底研磨匀浆。最大转速(~13,400 \times g) 离心 3min。收集上清直接进行提取步骤 3。

匀浆时间根据样本裂解难易程度决定, 亦可匀浆后静置 3-5min 延长裂解时间 (期间颠倒匀吹 2-3 次)。

- c. 体液及其它液体样本处理: 尿液、腹水、胸水、脑积液等根据需要取 1-10mL, 离心 2min, 留下沉淀及约 200 μ L 上清, 充分震荡悬浮沉淀; 有时也可以直接取样本 200 μ L;
- d. 细菌: 培养良好的细菌菌液 1mL, 离心后留下细菌团块及大约 100 μ L 上清, 充分振荡悬浮细菌, 直至没有细胞团块 (重要)。
- e. 抗凝全血: 1 倍体积全血加入 5 倍体积红细胞裂解液 (或 Buffer EL), 冰上裂解 10-15min, 4 $^{\circ}$ C 下以 400 \times g 离心 10min, 然后完全去除并丢弃上清液, 加入 200 μ L PBS 充分重悬白细胞至无细胞团后用于提取。

2. 将上述处理好的样品加入 500 μ L Buffer RFL, 充分颠倒混匀(或涡旋)1min。

若细胞量过大裂解后有明显沉淀, 可最大转速(~13,400 \times g)离心 2min 取上清进行下一步操作。

3. 将上述步骤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(\geq 10,000 rpm)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, \geq 8000 \times g(\geq 10,000 rpm)离心 30s, 弃废液。**5. 重复上述步骤 4 一次。****6. 倒弃滤液, 将吸附柱放入收集管中, 以最大转速(~13,400 \times g)离心 2min 干燥柱膜。并将吸附柱取出套入新的无酶 1.5mL 离心管中,**

若吸附柱中残留乙醇, 可开盖静置 3min 挥发去除, 以防止对纯化后的 RNA 的下游实验造成影响。

7. 向吸附柱膜正中央加入 30-50 μ L RNase-free Water, 盖上盖子室温静置 30-60s。后置于离心机中 \geq 12,000 \times g(\geq 13,000 rpm) 离心 1-2min 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 $^{\circ}$ C 储存。若需长时间保存 RNA 溶液稳定不降解, 可适量添加 RNA Chill (ES-8520) 可更长时间保存 RNA。