

## 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	EK-1328-250T
纯化次数	50 次	100 次	250 次
Buffer RFL	40ml	80ml	220ml
Buffer RPE	12ml	24ml	60ml
RNase-free Water	10ml	20ml	50ml
RNase-free 吸附柱	50	100	250
2 ml 收集管	50	100	250
使用手册	1	1	1

#### 产品介绍

本试剂盒可以快速地从小细胞、组织、全血、骨髓、体液、细菌、病毒等样本中提取总 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

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. 动物细胞: 悬浮细胞离心后留下细胞团块和适量上清 (200 $\mu$ l/2 $\times$ 10<sup>6</sup> 细胞), 充分震荡直至没有细胞团块 (重要), 取 200 $\mu$ 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 $\mu$ l PBS 重悬。

注意: 收集细胞数量不要超过 1 $\times$ 10<sup>7</sup>, 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 600 $\mu$ l Buffer RFL (动物组织量不超过 30mg), 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 200 $\mu$ l 用于提取。

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 (期间颠倒吹匀 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 $\mu$ l 上清, 充分震荡悬浮沉淀; 有时也可以直接取样本 200 $\mu$ 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 $\mu$ 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 10-15 分钟, 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 $\mu$ 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 $\mu$ 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 2 分钟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 $\mu$ 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 $\mu$ 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 3 分钟挥发去除, 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 $\mu$ 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 $\mu$ 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。