

## NcmSpin RNA Quick Purification Kit

### NcmSpin 快速 RNA 提取试剂盒

Cat.No: M5106      Size: 50 preps

#### 产品介绍

本试剂盒可以快速从 $\leq 3 \times 10^6$ 个细胞以及 $\leq 10\text{mg}$ 组织中提取总 RNA。本产品使用的裂解液 (RLQ Lysis Buffer) 可以迅速裂解细胞和组织的同时抑制 RNA 酶作用,且在乙醇辅助结合条件下高效地将 RNA 结合在纯化柱硅胶膜上,杂质再经过洗涤过程被有效去除,洗脱后获得纯净的总 RNA。全流程操作简单迅速且纯化获得的 RNA 可直接用于 RT-PCR, Northern Blot, Poly(A)+筛选等多种分子生物实验。

#### 产品特点

- \* 安全性高: 无需使用苯酚, 氯仿等有毒试剂
- \* 使用范围广: 对适量细胞和动物组织提取均适用
- \* 操作简单快速: 室温操作, 最快 8 分钟内可完成全纯化步骤

#### 产品成分

组成成分	M5106 (50 preps)
RLQ Lysis Buffer	30 ml
RWB Wash Buffer*	10 ml
REB Elution Buffer	8 ml
快速 RNA 纯化柱(含收集管)	50 个
1.5ml 离心管 (RNase free)	100 个
说明书	1 份

\*首次使用前, 于 RWB Wash Buffer 中加入标签指定量无水乙醇 (40 ml 无水乙醇), 充分混匀后使用, 并做好标记。

\*注意观察各溶液是否有析出或浑浊 (尤其冬季低温环境时), 可 37°C 温浴至溶液澄清, 避免影响使用效果。

#### 运输和保存方式

- \*常温运输, 室温避光保存, 有效期 12 个月 (2-4°C 可保存更长时间)。
- \*REB Elution Buffer 建议多管分装使用。

#### 注意事项

1. 预防 RNase 污染, 避免 RNA 降解, 使用无 RNase 的塑料制品和枪头; 操作时要戴一次性口罩和手套, 实验过程中要勤换手套。
2. 应尽量使用新鲜的实验样本, 确保提取的 RNA 不被降解。
3. 使用组织研磨仪时, 应注意低温研磨及优化研磨条件, 确保研磨充分; 如使用液氮研磨组织, 应随时加入液氮, 避免 RNA 降解。
4. 本试剂盒最适上样量能满足大部分的样本, 但对核酸含量过高或核酸含量过低的样本, 可根据需求减少或增加样本的起始量。
5. 整个 RNA 提取的操作过程必须在室温进行, 不可置于冰上, 直至洗脱之后获得的 RNA 方可置于冰上, 避免产生的不溶物堵塞 RNA 纯化柱。
6. 不同样本充分裂解的时间会存在差异, 正常高速振荡混匀或用移液枪反复吹打 30s-2min 即可充分裂解。若样本呈粘稠状, 需要适当延长裂解时间或增加 RLQ Lysis Buffer 裂解液。对于组织样本, 有些需要优化研磨或者匀浆条件, 使得组织充分裂解释放出 RNA。
7. 样本需要充分裂解, 否则可能会堵塞快速 RNA 纯化柱, 影响 RNA 的回收及纯度。样本量较大时, 需要适当增加裂解液使用量, 并使用多个快速 RNA 纯化柱进行纯化操作。
8. 快速 RNA 纯化柱的最大容量是 700ul, 使用时, 如果液体的体积超过最大容积, 请分批加入。
9. 细胞或组织裂解物, 上柱前需要加入等体积的无水乙醇, 充分混匀后加入快速 RNA 纯化柱中离心。

## 操作步 骤

### 样品裂解步骤

不同的样本类型，需要选择不同的裂解步骤进行实验，如果处理的样本量增大或处理样本核酸含量过高，可以按比例增加裂解液体积，使用多个快速 RNA 纯化柱进行实验操作。

#### 贴壁培养的细胞：

1. 移除培养基，用 1X PBS 清洗细胞一次。
2. 在培养板中直接加入 500ul ( $\leq 3 \times 10^6$  细胞) RLQ Lysis Buffer 裂解液，水平放置片刻，便于裂解液均匀分布细胞表面来裂解。
3. 使用移液器吹打细胞并移至收集管中，高速振荡混匀或用移液枪反复吹打 30s-2min，直至匀浆液清亮且不粘稠。
4. 匀浆液室温静置 2min。（可以在培养板中直接加入等体积的无水乙醇，转移至 RNA 快速纯化柱进行后续操作）。

**注意：**（1）对于 T 细胞/B 细胞等体积很小，RNA 含量低的细胞，建议增加细胞数量，最少  $1 \times 10^6$  细胞，最大可  $1 \times 10^7$  细胞。

（2）不方便直接裂解的培养容器，可以使用细胞刮子刮下细胞或者胰蛋白酶消化后，将细胞收集到离心管中。

（3）通常十二孔板 70%以上密度，六孔板 40%左右密度能获得较好的效果。若六孔板细胞密度在 80%以上，建议在板中加入 1ml RLQ Lysis Buffer 裂解液，然后加入等体积的无水乙醇，转入 2 个纯化柱或者分次加入纯化柱进行后续操作。

#### 悬浮培养的细胞：

1. 将悬浮培养的细胞和培养基一起移入离心管，离心收集细胞。使用 1X PBS 清洗一次，12,000rpm 离心 1min,弃去上清。
2. 加入 500ul ( $\leq 3 \times 10^6$  细胞) RLQ Lysis Buffer 裂解液。
3. 使用移液器吹打细胞并移至收集管中，高速振荡混匀或用移液枪反复吹打 30s-2min，直至匀浆液清亮且不粘稠。
4. 匀浆液室温静置 2min。

**注意：**正常情况下，高速振荡混匀或用移液枪反复吹打 30s-2min 即可充分裂解，若样本仍呈粘稠状，可适当延长裂解时间。

#### 动物组织样本的裂解：（适合内脏组织，肿瘤组织等，不适合皮肤，骨等坚硬组织）

1. 向新鲜组织或者-80℃冻存的组织样本加入 300ul ( $\leq 10\text{mg}$  组织) RLQ Lysis Buffer 裂解液，然后用玻璃匀浆器或者电动匀浆器将组织研磨 3-5min，彻底匀浆直至没有明显沉淀。
2. 研磨充分之后，如匀浆液不足 300ul，添加 RLQ Lysis Buffer 裂解液补足 300ul，振荡混匀。
3. 12,000 rpm，4℃离心 5 分钟。将上清转移至新的 1.5ml 离心管中。

**注意：**（1）正常情况下，内脏组织，肿瘤组织等研磨 3-5min 即可充分裂解，若样本仍有明显沉淀，可适当延长研磨时间。若组织相对坚硬，难研磨等，需要优化研磨条件，直至组织充分裂解。

（2）样本充分裂解后，若残留少量未裂解的沉淀物可通过后续离心去除。

### RNA 纯化步骤

1. 向上述裂解的细胞或组织中加入等体积的无水乙醇，用移液枪吹打混匀（若产生沉淀，是正常现象，可用移液枪多次吹打，打散沉淀）。

2. 将液体转入 RNA 纯化柱，室温 12,000rpm 离心 1 分钟，弃废液（若液体超过 700ul,可以分 2 次加入）。

**可选步骤：**若实验对基因组的少量残留极其敏感，可以用 DNA 酶进行处理（可选择本公司 DNA 酶，货号 N1015），按每个样品加入 2ul 的 DNA 酶和 10ul 的 REB Elution Buffer 的量，先混合后向每个纯化柱中央加 12ul，室温静置 5 分钟，然后加入 RWB Wash Buffer，进行后续操作。



纯化柱吸附 RNA 离心、去滤液

3. 向 RNA 纯化柱中加入 700ul 的 RWB Wash Buffer(确认已经加入指定体积的无水乙醇)，室温 12,000rpm 离心 1 分钟弃废液。

4. 将 RNA 纯化柱装回收集管中，室温 12,000rpm 离心空转 1-2 分钟，弃废液。

5. 将 RNA 纯化柱放到干净的 RNase Free 的 1.5ml 离心管上，开盖晾干 2 分钟。



700ul RWB Wash Buffer 洗 1 次、空管离心 2 分钟

6. 向吸附柱膜的中央处加入 20-50ul 的 REB Elution Buffer 或 RNase Free Water，室温静置 2 分钟，然后 12,000rpm 离心 1 分钟洗脱 RNA。

7. 测定洗脱的 RNA 浓度，进行后续实验。提取的 RNA 可立即用于后续实验，也可以在-80℃保存备用。



20ul~50ul REB Elution Buffer/RNase Free Water洗脱