
版本号: 250211

EASYspin Plus Super Fast RNA Kit
EASYspin Plus 6 分钟超速 RNA 提取试剂盒

目录号: RN71

❖ **试剂盒组成、储存、稳定性:**

试剂盒组成	保存	50 次(RN7101)
裂解液 UF	室温	30 ml
去蛋白液 RW1	室温	35 ml
漂洗液 RW	室温	10 ml 第一次使用前按瓶子标签指示加入无水乙醇
RNase-free H ₂ O	室温	5 ml
DNA 清除/RNA 吸附 通用柱和收集管	室温	100 套

本试剂盒在室温储存 12 个月不影响使用效果。

储存事项:

1. 不合适的储存于低温 (4°C 或者 -20°C) 会造成溶液沉淀, 影响使用效果, 因此运输和储存均在室温下进行。
2. 避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、PH 值变化, 各溶液使用后应及时盖紧盖子。

❖ **产品介绍:**

本品采用独有的 DNA 清除/RNA 吸附通用柱技术配合新型溶液体系, 无需使用酚/氯仿、β-巯基乙醇等有毒有害试剂。适用于从多种普通动物组织/细胞/植物/细菌中高效提取高质量的总 RNA, 最快全程仅需 6 分钟。得到的总 RNA 纯度高, gDNA 残留少, 无蛋白和其他杂质污染, 可直接用于 RT-PCR、RT-qPCR、RNA 高通量测序建库、芯片分析等多种下游实验。

❖ 产品特点：

1. 无需有毒的苯酚/氯仿、 β -巯基乙醇等试剂，也无需进行乙醇沉淀等步骤。
2. DNA 清除/RNA 吸附通用柱可以 30 sec 过滤清除 gDNA，不需要繁琐的 DNase 消化，最快全程仅需 6 分钟。最大限度的简化了操作和减少了 RNA 降解几率。
3. RNA 完整性极好不降解，电泳图 28S:18S 典型比值大于 2:1。
4. 提取的 RNA 纯度极高，无蛋白和杂质残留，OD₂₆₀/OD₂₈₀ 典型的比值高达 2.1~2.2。一般不需要 DNase 消化，可直接用于反转录 PCR、荧光定量 PCR、高通量测序建库等实验。
5. 通用性强，普通动物组织/细胞/细菌/简单植物样本均可使用。

❖ 注意事项

1. 所有的离心步骤均在室温完成。使用转速可以达到13,000 rpm的传统台式离心机。
2. 裂解液UF和去蛋白液RW1中含有刺激性化合物，操作时戴乳胶手套，避免沾染皮肤，眼睛和衣服。若沾染皮肤、眼睛时，要用大量清水或者生理盐水冲洗。
3. 本试剂盒可去除体系中绝大部分的DNA残留，纯化获得的RNA通常无需使用DNase I处理即可用于下游实验操作。不同样本核酸含量相差大，如果下游实验对痕量DNA十分敏感，可以使用DNase I进一步清除DNA污染（详情可以联系艾德莱技术咨询）。或者提取过程中进行DNase柱上消化（货号：RN34 DNase I 柱上消化试剂盒）。

❖ 操作步骤：（实验前请先阅读注意事项）

- ⇒ 第一次使用前按漂洗液 RW 瓶标签指示加入无水乙醇!充分混匀，加入后请及时在方框打钩标记已加入乙醇，以免多次加入!

一、样本处理

- A. 贴壁细胞：**无需消化，吸除细胞培养基上清后可直接在培养皿中立即加入 500 μ l 裂解液 UF 消化裂解（可用移液器反复吹打帮助裂解）；不方便直接裂解的培养容器，可以用细胞刮子刮下细胞，或者胰酶消化后离心收集

细胞，吸弃上清，加入 500 μ l 裂解液 UF ($<8 \times 10^6$ 个细胞)，涡旋震荡或移液器吹打直至无明显细胞团即可。

- B. 悬浮细胞：**直接离心收集细胞，13,000 rpm 离心 10 sec，使细胞沉淀下来，吸弃上清后加入 500 μ l Buffer UF ($<8 \times 10^6$ 个细胞)，涡旋震荡或移液器吹打直至无明显细胞团即可。
- C. 动物组织：**取新鲜组织约 10-20 mg (< 30 mg) 加入 500 μ l 裂解液 UF，用玻璃匀浆器或电动匀浆器将组织研磨均匀。若用液氮研磨，在液氮中研磨组织成粉末后，取适量组织细粉 10-20 mg (< 30 mg) 转移至预装有 500 μ l Buffer UF 的 1.5 ml 离心管，涡旋震荡或移液器吹打直至无明显细胞团即可。
- D. 植物：**液氮中研磨适量植物/真菌组织成细粉后，取 50 mg-100 mg 细粉转移至预装有 600 μ l Buffer UF 的 1.5 ml 离心管，立即剧烈涡旋震荡 30 sec，使样本与裂解液充分混合裂解完全，13,000 rpm 离心 5 min，取上清立即进行后续操作。

▲本试剂盒仅适用于简单植物样品，如果植物样品较复杂导致效果不佳时应使用艾德莱专门的植物 RNA 提取试剂盒提取（例如货号：RN69）。或者联系艾德莱技术人员单独订购一个植物 RNA 提取辅助试剂配合使用。

二、RNA 提取

1. 将处理好的匀浆液加到 DNA 清除/RNA 吸附通用柱(已放入收集管内，以下简称通用柱)中，13,000 rpm 离心 30 sec，弃掉通用柱，**保留收集管中的滤液 (RNA 在滤液中)**。
2. 向滤液中加入 0.5 倍滤液体积的无水乙醇 (约 250 μ l)，移液器吹打混匀。
▲若加乙醇后出现浑浊或有絮状物产生，属正常现象，立即吹打混匀，不要离心。
3. 将上述混合液加入至一个新的通用柱 (已放入收集管内) 中，13,000 rpm 离心 30 sec，**弃滤液**，将通用柱放回收集管。
▲吸附柱容积为 750 μ l，若混合液超过该体积请分多次进行上柱。
4. 向通用柱中加入 700 μ l 去蛋白液 RW1，13,000 rpm 离心 15 sec，**弃滤液**。
5. 向通用柱中加入 500 μ l 漂洗液 RW (使用前请检查是否已加入无水乙醇)，13,000 rpm 离心 15 sec，**弃滤液**。

6. 向通用柱中加入 500 μl 漂洗液 RW (已加入无水乙醇), 13,000 rpm 离心 2 min。小心将通用柱从收集管中取出, 避免通用柱下沿接触滤液, 导致污染。
 - ▲(可选)若通用柱下沿接触到滤液, 弃滤液, 将通用柱放回收集管中, 13,000 rpm 空甩 1 min, 防止乙醇残留的污染。
7. 将通用柱转移至新的 1.5 ml 离心管中, 向通用柱膜中央悬空滴加 30–50 μl 的 RNase-free ddH₂O, 静置 1 min, 13,000 rpm 离心 1 min。
 - ▲洗脱体积建议不少于 30 μl , 体积过小会影响核酸回收效率。
 - ▲以下步骤都可以帮助提高 RNA 产量浓度:
 - RNase-free ddH₂O 洗脱前于 90–100°C 预热; 滴加至膜中后, 室温静置 2 - 3 min
 - 将第一次洗脱液重新加入通用柱进行二次洗脱。
8. 提取的 RNA 可直接用于下游实验或 -85°C ~ -65°C 保存。