

For research use only

Version Number : 1.0

注意事项：（请务必在使用试剂盒前仔细阅读注意事项）

QuickEasy™ Cell Total RNA Isolation Kit

试剂盒组成	RE-03211	RE-03213
	50 T	200 T
Buffer cRL*	25 mL	100 mL
Buffer cRW1*	25 mL	100 mL
Buffer cRW2	8 mL	32 mL
RNase-Free ddH ₂ O	5 mL	20 mL
QuickEasy™ RNA-Only Column	50 套	200 套
RNA Collection Tube	50 套	200 套
说明书	1 份	1 份

*：Buffer cRL、Buffer cRW1 中含有具刺激性的离液盐，操作时请注意带上手套和进行相关防护措施。

*：Buffer cRL 须远离明火与热源，避免阳光直射。

产品简介

本试剂盒采用第三代 RNA 提取技术，能够从培养细胞中高效、便捷地提取高纯度、高质量的总 RNA。依托 FOREGENE 新一代裂解体系与硅基吸附柱技术，裂解液可直接过柱进行 RNA 吸附，无需额外步骤，操作更为简便、省时。经专用缓冲液 Buffer cRW1 和 Buffer cRW2 清洗，所得 RNA 无蛋白质、DNA、离子及有机化合物污染。

运输及储存条件

- ❖ 运输条件：常温运输。
- ❖ 储存条件：常温(15–25°C)避光干燥条件下，可保存 24 个月。

- ❖ 所有实验步骤均在常温(15-25°C)进行(包括离心)，切勿使用冰浴和低温(4°C)离心。
- ❖ 样品应尽量使用新鲜样本，冻存样本避免反复冻融，否则会导致提取的 RNA 降解并导致产量下降。
- ❖ 培养细胞样本用量不宜超过 5×10⁶ cells，否则会影响 RNA 产量和纯度。
- ❖ 试剂盒使用前，请在 Buffer cRW2 中添加无水乙醇，加入量请参照试剂瓶上标签。
- ❖ RNA 产率和质量与细胞样本用量和洗脱体积有关，建议 1-5 × 10⁶ 细胞使用 500 μL Buffer cRL 进行裂解。
- ❖ 洗脱体积：洗脱液体积不应少于 50 μL，否则会影响 RNA 产量。
- ❖ 请检查试剂盒中的 Buffer cRL 和 Buffer cRW1 是否有晶体析出现象，若低温存放后有晶体析出，可将 Buffer 放置于室温或 37°C 一段时间，将晶体溶解后混匀再使用。

材料取用说明

- ❖ 培养细胞：单次处理，用量请勿超过 5 × 10⁶ cells。

操作步骤(全程常温(15-25°C)操作，切勿冰浴和低温离心)

使用前请先在 Buffer cRW2 中加入无水乙醇，加入体积请参照试剂瓶上标签。

样本裂解

1. 悬浮细胞: 1000 ×g 离心 5 min 弃净培养上清, 收集细胞沉淀, 1-5 × 10⁶ 个细胞加入 **500 μL Buffer cRL**, 移液器反复吹打或涡旋振荡直至无明显细胞团块即可。
2. 贴壁细胞: 移除培养基后可直接在培养皿中裂解; 或者使用胰酶将细胞消化后按照悬浮细胞进行处理即可。常规 6 孔板每孔细胞加入 **500 μL Buffer cRL**, 充分覆盖于细胞表面, 然后用移液器反复吹打使细胞脱落。
 - ❖ 针对贴壁较紧的细胞, 需增加吹打次数直至细胞完全脱落充分裂解。
 - ❖ 细胞量较多或使用直径 10 cm 大平皿培养细胞, 建议将裂解液增加至 1 - 2 mL。

RNA 提取

1. 将上述裂解产物全部转移至纯化柱(**QuickEasy™ RNA-Only Column**)中, 12,000 rpm (~13,400 ×g)离心 30 sec, 弃废液。

注意: 如果裂解混合液中出现絮状沉淀, 请将沉淀一并转移至纯化柱中。
2. 向纯化柱中加入 **500 μL Buffer cRW1**, 12,000 rpm (~13,400 ×g)离心 30 sec, 弃掉收集管中废液。
3. 向纯化柱中加入 **500 μL Buffer cRW2**(使用前请确认已按照说明加入无水乙醇), 12,000 rpm (~13,400 ×g)离心 30 sec, 弃掉收集管中废液。
4. 将纯化柱放回收集管中, 12,000 rpm (~13,400 ×g)空管离心 30 sec, 去掉离心柱中残余的 **Buffer cRW2**。

5. 将纯化柱转移至 **RNA Collection Tube** 中, 向纯化柱的膜中央滴加 **50-100 μL RNase-Free ddH₂O**(切勿将洗脱液添加到压圈上, 否则会损失较大体积的洗脱液), 室温放置 1 min。12,000 rpm (~13,400 ×g)离心 1 min 收集 RNA 溶液。

注意: 为提高 RNA 洗脱效率, 可预先将 RNase-Free ddH₂O 于 65°C 预热, 再进行上述操作。

RNase-Free ddH₂O 加入体积不应低于 50 μL, 体积过小会影响洗脱效率。为提高 RNA 产量, 可将离心得到的 RNA 溶液重新加至纯化柱中, 重复步骤 5。得到的 RNA 溶液可直接用于下游实验或置于 -80°C 保存。