

## MolPure® 5 min Flash Cell RNA Kit

### 5 min 极速细胞 RNA 提取试剂盒

#### 产品简介

MolPure® 5 min Flash Cell RNA Kit 适用于从 96、24、12、6 孔板培养细胞总 RNA 提取,全程仅需 5 min。离心吸附柱中采用的硅基质材料为本公司特有新型材料,配合本公司独特的缓冲液配方可最大限度将细胞代谢物、蛋白等杂质去除。提取的 RNA 纯度高,质量稳定可靠,可适用于各种下游应用实验,如 RT-PCR、RT-qPCR、体外转录、分子克隆等。

#### 产品信息

货号	19231ES08 /19231ES50
规格	5 T /50 T

#### 组分信息

组分编号	组分名称	19231ES08	19231ES50
19231-A	DNA 清除/RNA 吸附通用柱 (MolPure® DNA removing/RNA binding Column A2)	10 个	100 个
19231-B	2 mL 收集管 (2 mL Collection Tube C2)	10 个	100 个
19231-C	裂解液 LB* (LB Buffer C2*)	3 mL	30 mL
19231-D	去蛋白液 PL (PL Buffer C2)	4 mL	40 mL
19231-E	漂洗液 W* (Wash Buffer C2*)	1.3 mL	13 mL
19231-F	RNase-free H2O	1 mL	5 mL

#### 储存条件

室温避光保存,有效期 2 年。2-8°C 可保存更长时间。

#### 注意事项

1. 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。
2. 注意观察各溶液是否有析出或浑浊(尤其冬季等室温为低温环境时),可 37°C 温浴复溶至溶液澄清,避免影响使用效果。
3. 裂解液 LB\* 和去蛋白液 PL 含有刺激性物质,为了您的安全和健康,请穿实验服并佩戴一次性手套操作。
5. 本产品仅作科研用途!

#### 使用说明

##### 使用前准备

1. 自备设备和试剂:台式离心机、水浴锅或金属浴,1.5 mL RNase-free 离心管,无水乙醇, $\beta$ -巯基乙醇等。
2. 所有的步骤均在室温完成,切勿冰浴和低温离心。使用可以达到 12,000 rpm 转速的传统台式离心机。
3. 若 RNA 提取后续用于克隆全长 cDNA,须在 1 mL 裂解液 LB\* (19231-C) 中加入 10  $\mu$ L  $\beta$ -巯基乙醇。建议现配现用。  
加入  $\beta$ -巯基乙醇后的裂解液 LB\* 分装 4°C 保存,数周内稳定。若提取的 RNA 仅用于 qPCR 或测序分析等下游操作,可以选

择不加 $\beta$ -巯基乙醇，不会影响提取效果。

4. 首次使用前，在漂洗液 W<sup>\*</sup> (19231-E) 瓶中加入标签指定量的无水乙醇，充分混匀后使用，并做好标记。每次使用后将瓶盖盖紧，以保持漂洗液 W<sup>\*</sup> 中的乙醇含量。

## 操作方法

### 一、样本预处理：

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  $\mu$ L **裂解液 LB<sup>\*</sup>** 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  $\mu$ L **裂解液 LB<sup>\*</sup>** ( $< 8 \times 10^6$  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 s，使细胞沉淀下来，吸弃上清后加入 500  $\mu$ L **裂解液 LB<sup>\*</sup>** ( $< 8 \times 10^6$  个细胞)，涡旋震荡或移液器吹打直至无明显细胞团即可。

【注】：务必保证彻底吸净培养液，避免培养液稀释裂解液后导致影响裂解效果。若样本数较多，样本裂解应分批操作，避免细胞晾干导致 RNA 降解。

【注】：若胰酶消化细胞，建议加入培养基终止消化。

【注】：如果孔板的体积较小，可选择加入 250  $\mu$ L **裂解液 LB<sup>\*</sup>**（注意在第 2 步中，向滤液中加入 0.5 倍滤液体积的无水乙醇约 125  $\mu$ L），反复吹打混匀至无细胞团。

【注】：裂解物可室温保存约 24 h，在 4 $^{\circ}$ C 中保存约 1 周，更长时间保存请存放于 -80 $^{\circ}$ C。

### 二、RNA 提取：

1. 将处理好的匀浆液加到 DNA 清除/RNA 吸附通用柱上(柱子放在 2 mL 收集管内)，13,000 rpm 离心 30 s，收集含有 RNA 的滤液 (**gDNA 在柱上，RNA 在滤液中**)。

【注】：离心后，若滤膜仍有液体残留，可延长离心时间至 5 min。

【注】：离心后，若收集管中有沉淀产生，将滤过液转移至新的 1.5 mL RNase-free 离心管中。

2. 向滤液中加入 0.5 倍滤液体积的无水乙醇（约 250  $\mu$ L），移液器吹打混匀。

【注】：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. 将上述混合液全部加入新的 DNA 清除/RNA 吸附通用柱中，13,000 rpm 离心 30 s，弃掉滤液 (**此步 RNA 吸附在柱上**)。

【注】：吸附柱容积为 750  $\mu$ L，若混合液超过该体积请分多次进行上柱。

4. 加入 700  $\mu$ L **去蛋白液 PL**，13,000 rpm 离心 15 s，弃掉废液。

5. 将通用柱放回收集管中，加入 500  $\mu$ L **漂洗液 W<sup>\*</sup>**（确保**漂洗液 W<sup>\*</sup>**已添加无水乙醇），13,000 rpm 离心 15 s，弃废液。

6. 将通用柱放回收集管中，加入 500  $\mu$ L **漂洗液 W<sup>\*</sup>**，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。

【注】：(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 DNA 清除/RNA 吸附通用柱放入新的 1.5 mL RNase-free 离心管中，在吸附柱中央加入 20-50  $\mu$ L RNase-free H<sub>2</sub>O，室温放置 1 min。然后 13,000 rpm 离心 1 min。收集滤液，即为 RNA 溶液。样品可置于 -80 $^{\circ}$ C 长期保存。

【注】：可通过以下方式提高回收产量：①65 $^{\circ}$ C 预热 RNase-free H<sub>2</sub>O；②将 RNA 滤液再次上柱，室温放置 2 min 后，洗脱。