

Extiquick™通用型 RNAzol 提取试剂盒

操作说明书

(Cat#EX007, Version1.0)

欣基（杭州）生物科技有限公司
WisGen BioSciences Co., Ltd

For Research Use Only.

Not For Use in Diagnostic Procedures.

仅供科研使用

产品组成

主货号：EX007 规格：100 preps / 250 preps

组 分	100 preps (EX007-100)	250 preps (EX007-250)	保存条件
RNAzol Reagent	100 mL	250 mL	2 ~ 8 °C
Buffer BCP	10 mL	25 mL	2 ~ 8 °C
Buffer RW I	20 mL	50 mL	室温
Buffer RW II	24 mL	60 mL	室温
RNase Free Water	5 mL	12.5 mL	室温
Silic Beads B	3 mL	7.5 mL	2 ~ 8 °C

保存与运输条件

请严格按照表格所示的温度进行保存，2 ~ 8 °C运输。

！ 注意：1) Silic Beads B 严禁冷冻或离心。

适用范围

本产品适用于 $\geq 200 \mu\text{L}$ 抗凝全血、 $< 5 \times 10^6$ 个细胞、 $> 25 \text{ mg}$ 动物组织样本 RNA 的分离与纯化。

产品概述

Extiquick™ 通用型 RNAzol 提取试剂盒基于超顺磁性的磁性粒子纯化技术，高效吸附样本中的 RNA，并结合配套清洗试剂，最大程度地去除蛋白质及其他杂质，达到快速分离、纯化核酸的目的。本产品适用于血液、细胞及组织的 RNA 分离及纯化，操作过程简单快速，分离出的 RNA 纯度高、完整性好且质量稳定，可直接用于定量 PCR 及 RNA-seq 等下游分子实验。

注意事项

! 请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项：

1. Buffer RW I 和 Buffer RW II 使用前，请按瓶身标签所示加入对应量的异丙醇和无水乙醇后方可使用。
2. Silic Beads B 在使用前请务必置于室温下平衡 30 min，并充分振荡混匀，使磁珠均匀分散后方可使用。此组分严禁冷冻或者离心，此操作将导致试剂失效而无法使用。
3. 不可过度干燥磁珠，以免造成 RNA 洗脱效率下降。
4. 裂解完成后，取离心后上清溶液进行后续实验，注意不要吸到下层液体。
5. 使用含肝素抗凝剂的采血管收集的血样，不可用于 PCR 及 RNA-seq 相关实验。

实验前准备

1. 自备试剂

生产商#货号	产品/试剂名称	备注
*	无水乙醇	/
*	异丙醇	/
*	1× PBS 缓冲液	/

⬆ * 常规实验室供应商品牌即可

2. 自备材料

实验仪器及耗材

生产商#货号	仪器/耗材名称	描述
*	台式离心机	/
*	微型离心机	/
*	涡旋振荡混匀仪	/
*	恒温振荡金属浴	/
*	移液器	/
AllSheng# AS-17030-00	全自动核酸提取仪 Auto-Pure 32A	自动法匹配的仪器； 可选择其它同类产品
Thermo Fisher# Q33216	Qubit® 3.0 Fluorometer	可选择基于荧光染料法的 DNA 定量系统的其它同类产品
Agilent #G2939AA	Agilent 2100 Electrophoresis Bioanalyzer® system	或其它同类产品
*	1.5 mL 无色灭菌离心管	建议选择无核酸酶的产品
*	1000 µL 吸头	建议选择无核酸酶 带滤芯的产品
*	200 µL 吸头	建议选择无核酸酶 带滤芯的产品

生产商#货号	仪器/耗材名称	描述
*	0.5 - 10 μ L 吸头	建议选择无核酸酶 带滤芯的产品
WisGen#QC001-R	xQuant™ 管 (适配 Qubit 平台)	可选择适配 Qubit® 荧光计的其它同类产品
WisGen#QC002-R	xQuant 检测联管 (适配 Qubit 平台)	可选择适配 Qubit® Flex 荧光计的其它同类产品
WisGen#MR-B-16	xMag™ 磁力架 (1.5 mL*16 孔)	手动法匹配的耗材； 可选择其它同类产品
AllSheng# AS-17031-01	96 孔 2 mL 深孔板	可选择适配全自动核酸提取仪 Auto-Pure 32A 的其它同类产品
AllSheng# AS-17031-02	2 mL 磁套棒	可选择适配全自动核酸提取仪 Auto-Pure 32A 的其它同类产品

⬆ * 常规实验室供应商品牌即可

实验流程 1：手动法操作步骤

1. 样本处理

1.1 血液样本

1.1.1 将采血管轻柔地上下颠倒混匀十次，取 1 mL 血液样本至离心管中。

1.1.2 加入红细胞裂解液裂解，10000 rpm 离心 1 min，去除上清，保留白细胞沉淀。

！ 注意：如果红细胞裂解不完全，可重复步骤 1.1.2 一次。

1.1.3 执行步骤 2 的实验流程。

1.2 细胞样本

1.2.1 将培养的细胞转移至 1.5 mL 离心管中，1000 rpm 离心 3 min，去除培养基，保留细胞沉淀。

1.2.2 加入 80-100 μ L TE 处理 10 分钟。

1.2.3 执行步骤 2 的实验流程。

1.3 组织样本

1.3.1 取 > 25 mg 的新鲜或冻存组织转移至 1.5 mL 离心管中。

！ 注意：肝脏及脾脏等细胞含量较多的组织，取 > 10 mg 即可。

1.3.2 执行步骤 2 的实验流程。

2. 核酸提取

2.1 在步骤 1 处理好的样本中加入 1 mL RNAzol Reagent 用手剧烈震荡混匀。

2.2 按照 1 mL 的 RNAzol Reagent 量，加入 100 μ L Buffer BCP，用手剧烈震荡，室温放置 3 min。

2.3 置于离心机中，4 $^{\circ}$ C，12000 \times g 离心 15 分钟，取上清待用。

2.4 取新的 1.5 mL 离心管加入 500 μ L 异丙醇以及 30 μ L Silic Beads B。

！ 注意：Silic Beads B 需提前室温放置 30 min，涡旋混匀后再使用。

2.5 取步骤 2.3 的上清 500 μ L 加入步骤 2.4 的离心管中，上下颠倒混匀后室温放置 10 min，每隔 3 min 颠倒混匀一次。

2.6 瞬时离心后，将离心管置于磁力架上静置 2 min，待溶液完全澄清后，小心去除上清液。

2.7 将离心管从磁力架上取下，加入 500 μ L Buffer RW I，振荡混匀 10 sec。

！ 注意：Buffer RW I 确认加入相应体积异丙醇后，方可使用。

2.8 瞬时离心后将离心管放置于磁力架上静置 2 min，待溶液完全澄清，小心去除上清液。

2.9 将离心管从磁力架上取下，加入 600 μ L Buffer RW II，振荡混匀 10 sec。

！ 注意：Buffer RW II 确认加入相应体积无水乙醇后，方可使用。

2.10 重复步骤 2.9 一次。

2.11 瞬时离心后将离心管置于磁力架上静置 2 min，待溶液完全澄清，吸弃所有溶液，打开管盖，空气干燥 1 ~ 2 min。

！ 注意：乙醇残留会影响后续酶的反应，所以干燥时要确保乙醇挥发完全，也需要避免过度干燥磁珠，造成 RNA 洗脱效率降低。

2.12 加入 50 μ L RNase Free Water，涡旋混匀，室温孵育 5 min。

2.11 将离心管放置于磁力架上静置 2 min，将上清液转移至新的离心管中。

2.12 洗脱后的 RNA 可直接用于后续实验，或置于 -20 $^{\circ}$ C 保存。

实验流程 2：仪器自动法操作步骤

该操作以奥盛 Auto-Pure 32A 全自动核酸提取仪提取血液样本为例，可同步完成 32 份血液样本的提取操作。

！ 注意：如使用其它品牌的全自动核酸提取仪，请结合本说明书操作步骤并咨询服务厂商。

1. 样本处理

请参考（实验流程 1.1）：手动法操作步骤中的“血液样本”提取流程进行实验。

2. 96 孔板加液准备

请参考下表，向 96 深孔板各孔位中加入相应试剂：

本孔位	1/7	2/8	3/9	4/10	5/11	6/12
试剂	步骤 1 离心上清 +异丙醇	Buffer RW I	Buffer RW II	Buffer RW II	RNase Free Water	Silic Beads B +Nuclease- Free Water
体积	500 μ L + 500 μ L	500 μ L	600 μ L	600 μ L	50 μ L	30 μ L + 70 μ L

！ 注意：

- 每次吸取磁珠前请务必涡旋混匀；
- 为提高工作效率，建议使用多通道移液器；
- 试剂加板完毕请尽快上机，防止试剂挥发导致实验结果不稳定。

3. 上机提取

3.1 将处理好的样品取 500 μL 与 500 μL 异丙醇加入 1/7 列孔位中。

3.2 将上样完毕的 96 孔深孔板置于奥盛 Auto-Pure 32A 型自动核酸提取仪中，插入磁套棒，打开仪器操作软件，运行“RNA 提取程序”。

“RNA 提取程序”参数设置如下，如果原程序不慎丢失，可自行设定程序。

步骤	孔位	名称	混合时间 (min)	吸磁时间 (sec)	等待时间 (min)	容 积 (μL)	混合速度 (1~10)	温 度 ($^{\circ}\text{C}$)
1	6/12	磁珠转移	1.0	60	0.0	100	5	OFF
2	1/7	RNA 结合	10.0	60	0.0	1000	5	OFF
3	2/8	清洗液 I	2.0	60	0.0	500	5	OFF
4	3/9	清洗液 II	2.0	60	0.0	600	5	OFF
5	4/10	清洗液 II	2.0	60	2.0	600	5	OFF
6	5/11	洗脱	5.0	60	0.0	50	5	OFF
7	4/10	弃磁珠	1.0	0	0.0	600	5	OFF

4. 核酸转移

4.1 程序运行完毕，将 5/11 孔中的 RNA 洗脱液转移至新的 1.5 mL 离心管中，丢弃 96 孔深孔板和磁套。

4.2 洗脱后的 RNA 可直接用于后续实验，或置于 -20°C 保存。

欣基（杭州）生物科技有限公司

WisGen BioSciences Co., Ltd

Add：浙江省杭州市钱塘区福城路 400 号 6 幢 8 层

Service：order@wisgen.cn Web：www.wisgen.cn

