

EZ-press RNA Purification Micro Kit

说明书

Cat. No.: EZB-RN7

一、产品简介

EZ-press RNA Purification Micro Kit 是从 $1 \times 10^4 \sim 3 \times 10^6$ 个细胞中快速提取得到高质量总 RNA 的试剂盒，可取代传统 TRIzol 法提取 RNA，且无需异丙醇/乙醇沉淀或使用苯酚、氯仿等有毒物质，极大的简化了提取步骤和缩短实验时间。本产品提供了基因组 DNA 清除柱，能够快速去除样品中残留的基因组 DNA，有效避免了残留基因组 DNA 对后续实验的影响。提取的总 RNA 纯度高，完整性好，可用于 RT-PCR、qPCR 等多种下游实验。

二、产品组分

组分 \ 货号 (规格)	EZB-RN7-T (6 Preps)	EZB-RN7 (50 Preps)
Lysis Buffer	4 ml	28 ml
Wash Buffer 1	5 ml	40 ml
Wash Buffer 2 ^{*1}	1 ml	6 ml
Elution Buffer	1 ml	10 ml
DNA Removing Spin Columns (with Collection Tubes)	6 Preps	50 Preps
RNA Columns (with Collection Tubes)	6 Preps	50 Preps

注：*1. 首次使用 Wash Buffer 2 前，须加入瓶身标签所示体积的无水乙醇并充分混匀（Wash Buffer 2 与无水乙醇的体积比为 1:4）。

三、保存条件

DNA Removing Spin Columns (with Collection Tubes) 需置于 4°C 保存，其余组分置于室温（15 ~ 25°C）保存，可稳定保存 18 个月。过期日期详见产品标签中有效期信息。

四、注意事项

首次使用 Wash Buffer 2 前，须加入瓶身标签所示体积的无水乙醇并充分混匀（Wash Buffer 2 与无水乙醇的体积比为 1:4）。

五、操作步骤

A. 实验前的准备工作：

1. 桌面先用 75% 乙醇进行喷洒擦拭，再用核酸酶清除剂（如 EZB-RC1）喷洒，停留 3 min 后擦拭干净；移液器用 75% 乙醇沾湿的干净的纸擦拭一遍，再用核酸酶清除剂沾湿的干净的纸擦拭一遍。
2. 使用无酶水配制 70% 的乙醇。

B. 操作步骤：

1. 取 $1 \times 10^4 \sim 3 \times 10^6$ 的细胞样品（优先建议使用 6 孔板或 35 mm 培养皿培养的细胞），弃去培养基后，加入 450 μ l Lysis Buffer（裂解液）（如细胞为加药处理的，建议先用 PBS 清洗细胞一次，再加入裂解液裂解），室温水平摇床上

150 rpm 摇 5 min。

2. 将上述裂解产物用移液器吹打 5 下，转移至 DNA Removing Spin Columns (with Collection Tubes) (DNA 清除柱) 中，4000 g 离心 30 sec；弃去离心柱，保留收集管中的流出液。

6. 向上述收集管里的流出液中加入等体积的 70%乙醇，充分吹打 10 下混匀（如出现絮状物，需将絮状物吹打至不可见为止）。然后将混合液转移至 RNA Columns (with Collection Tubes) (RNA 离心吸附柱) 中，8000 g 离心 30 sec（若离心后柱中有液体残留，可将转速提高到 12000 g，再次离心 30 sec），弃去收集管中的液体（倒掉液体后，可将收集管倒扣在吸水纸上扣几下），然后将离心柱放回收集管中。

7. 加入 700 μ l 的 Wash Buffer 1，8000 g 离心 30 sec，弃去废液，将离心柱放回收集管中。

8. 加入 500 μ l 的 Wash Buffer 2，8000 g 离心 30 sec，弃去废液，将离心柱放回收集管中。

9. 12000 g 空柱离心 1 min。

10. 弃去收集管，将离心柱转移至提前准备好的无酶的 1.5 ml EP 管中，开盖晾干 2 min。

11. 向离心柱中央的膜上加入 30 ~ 50 μ l Elution Buffer（洗脱液），室温放置 2 min。12000 g 离心 1 min。

12. 可选步骤：重复上述洗脱步骤一次，可提高大约 15% ~ 30% 的产量，同时 RNA 浓度会有一定程度的降低。

13. 弃去离心柱，所得的 RNA 应迅速转移到冰上放置并在充分混匀后进行浓度测定，然后储存于 -80°C 备用。

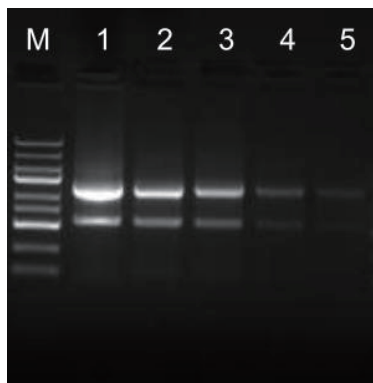
六、代表性实验结果

1. 使用本试剂盒分别提取不同细胞数的 HepG2 细胞的 RNA（40 μ l 洗脱），提取的 RNA 的浓度、纯度如下表所示：

样品	核酸浓度 (ng/ μ l)	260/280	260/230
3×10^6	1353.6	2.05	2.12
1×10^6	482.1	2.02	2.07
2×10^5	103.9	2.06	2.09
5×10^4	28.0	2.12	1.95
2×10^4	11.9	2.28	1.32
1×10^4	7.2	2.22	1.23

2. 琼脂糖凝胶电泳：

3×10^6 细胞的 RNA 取 2 μ l， 1×10^6 细胞的 RNA 取 3 μ l，其余样品各取 10 μ l，再加 4 μ l 的 DNA 上样缓冲液 6 $\times$ loading buffer，混匀后上样。M：DL5000 DNA marker；Lane 1 ~ 5 分别为 3×10^6 细胞、 1×10^6 细胞、 2×10^5 细胞、 5×10^4 细胞以及 2×10^4 细胞。最终得到琼脂糖凝胶电泳图如下图所示：



上述结果表明，本试剂盒能够从细胞样品中快速提取得到高质量的总 RNA，提取的总 RNA 纯度高，同时具有较好的完整性。