

EZFast Tissues/Cells RNA Purification Kit PLUS

说明书

Cat. No.: EZB-RN10

一、产品简介

EZFast Tissues/Cells RNA Purification Kit PLUS 是从部分非坚韧的动物组织和 $5 \times 10^4 \sim 3 \times 10^6$ 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-RN10-T (6 Preps)	EZB-RN10 (50 Preps)
Lysis Buffer		4 ml	28 ml
Wash Buffer 1		5 ml	40 ml
Wash Buffer 2 ^{*1}		1 ml	8 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）。
- 本产品适用于部分非坚韧的动物组织和细胞 RNA 提取，每个细胞样品的细胞数建议范围为 $5 \times 10^4 \sim 3 \times 10^6$ 。组织样品的种类和用量请见下表：

组织类型	心脏	肝脏	肾脏	脾脏	肺	大脑	脂肪
建议用量	5 ~ 30 mg	2 ~ 15 mg	2 ~ 15 mg	1 ~ 5 mg	2 ~ 10 mg	10 ~ 40 mg	10 ~ 40 mg
最适用量	~ 20 mg	~ 10 mg	~ 10 mg	~ 3 mg	~ 5 mg	~ 30 mg	~ 30 mg

注意：不在表格中的组织，需要先进行预实验，检测是否能够提取，经 Nanodrop 和琼脂糖凝胶电泳检测合格的，方可用本试剂盒进行 RNA 提取。否则可使用本公司的 EZB-RN4、EZB-RN6 或 EZB-RN001-plus 进行提取。

五、操作步骤

A. 实验前的准备工作:

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。

B. 操作步骤:

对于细胞样品:

1. 取 $5 \times 10^4 \sim 3 \times 10^6$ 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 500 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,12000 g 离心 30 sec;弃去离心柱,保留收集管中的流出液。直接进行第 5 步。

对于组织样品:

1. 根据上表的建议用量及情况称取动物组织,放进 2 ml 研磨用的离心管中(可用 QSP 或 Eppendorf 的 2 ml 离心管)。
2. 按照 500 μ l 裂解液/每样品的用量,将裂解液加入上述离心管中。
3. 每管放入 4 ~ 6 个氧化锆研磨珠,将组织放入组织研磨仪中,设置 70 Hz, 30 sec,匀浆 3 ~ 4 次,直至匀浆充分、无明显固体物为止。然后将上述样品离心管置于室温水平摇床上,150 rpm 摇 5 min,充分裂解组织,释放 RNA。
4. 将上述摇床裂解 5 min 后的产物直接转移至 DNA 清除柱中,12000 g 离心 30 sec(对于脾、肺、肾等 DNA 含量较高的组织建议 4000 g 离心 1 min);弃去离心柱,保留收集管中的流出液。
5. 向上述收集管里的流出液中加入 1/2 体积的无水乙醇,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,12000 g 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。
6. 加入 700 μ l 的 Wash Buffer 1, 12000 g 离心 30 sec,弃去废液,将离心柱放回收集管中。
7. 加入 700 μ l 的 Wash Buffer 2, 12000 g 离心 30 sec,弃去废液,将离心柱放回收集管中。
8. 12000 g 空柱离心 1 min。
9. 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。
10. 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 30 sec。
11. 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。
12. 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。