

# 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 <sup>*1</sup>		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:

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:

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 500  $\mu$ 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。
3. 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，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。
4. 加入 700  $\mu$ 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。
5. 加入 500  $\mu$ 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。
6. 12000 g 空柱离心 1 min。
7. 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。
8. 向离心柱中央的膜上加入 30 ~ 50  $\mu$ l Elution Buffer（洗脱液），室温放置 2 min。12000 g 离心 1 min。
9. 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。
10. 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。

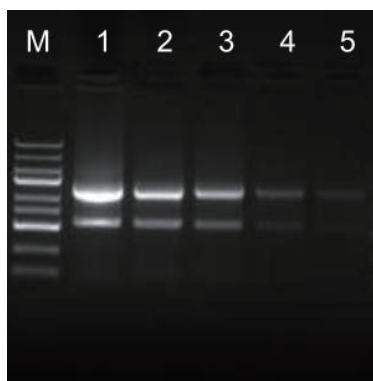
## 六、代表性实验结果

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

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

2. 琼脂糖凝胶电泳：

$3 \times 10^6$  细胞的 RNA 取 2  $\mu$ l， $1 \times 10^6$  细胞的 RNA 取 3  $\mu$ l，其余样品各取 10  $\mu$ l，再加 4  $\mu$ 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  $3 \times 10^6$  细胞、 $1 \times 10^6$  细胞、 $2 \times 10^5$  细胞、 $5 \times 10^4$  细胞以及  $2 \times 10^4$  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。