

## EZ-press DNA & RNA Purification Kit 说明书

Cat.No.:B0009

使用本产品前，请务必仔细阅读本说明书，以保证操作正确

### 产品组分

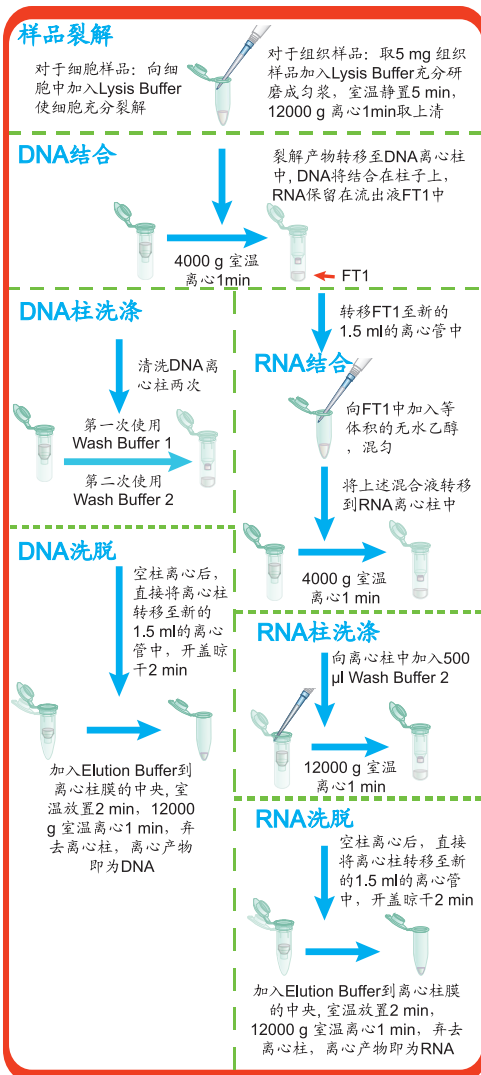
组分	B0009 (50 Preps)
Lysis Buffer	30 ml
Wash Buffer 1 <sup>†</sup>	13 ml
Wash Buffer 2 <sup>†</sup>	13 ml
Elution Buffer	10 ml
Spin Columns for DNA (with Collection Tubes)	50 Preps
Spin Columns for RNA (with Collection Tubes)	50 Preps

注：<sup>†</sup>首次使用前，请往Wash Buffer 1中加入20 ml的无水乙醇，往Wash Buffer 2中加入52 ml的无水乙醇，并充分混匀。

### 保存条件

本产品中的Spin Columns for DNA需避光保存在4°C，其余所有组分保存在室温，可稳定保存18个月。过期日期详见产品标签中有有效期信息。

### 实验流程



### 注意

- 首次使用Wash Buffer前，请往Wash Buffer 1中加入20 ml的无水乙醇，往Wash Buffer 2中加入52 ml的无水乙醇，并充分混匀（Wash Buffer 1与无水乙醇的体积比为13:20，Wash Buffer 2与无水乙醇的体积比为1:4）。
- 建议使用前把Elution Buffer分装为3~4份，以减小污染的概率。
- DNA和RNA提取须在室温进行，提取过程中不可置于冰上。
- 建议用6孔板或35 mm培养皿培养细胞，培养至合适的密度进行RNA提取（24孔板长至80%以上的细胞密度也可使用），不建议用100 mm培养皿培养的细胞直接裂解提取RNA，否则可能导致细胞裂解不充分或离心柱堵塞或导致基因组残留。

### 样品裂解

#### 1A. 对于细胞数 $\leq 3 \times 10^6$ 的贴壁细胞样品

- 弃去培养基，用PBS清洗细胞（沿侧壁加入PBS轻轻晃动后，再沿侧壁吸去PBS）。
- 加入500  $\mu$ l裂解液（Lysis Buffer），用移液器用力吹打30下，使细胞充分裂解；或加入裂解液后将孔板置于摇床上室温摇5 min（120~180 rpm），再吹打10下以使细胞充分裂解。

#### 1B. 对于悬浮细胞或者细胞数 $\geq 3 \times 10^6$ 的贴壁细胞样品

- （悬浮细胞直接从下一步开始）用胰酶消化细胞，然后加培养基终止消化。
- 取出约  $1 \times 10^6 \sim 3 \times 10^6$  细胞转移至1.5 ml离心管中，500 g离心3~5 min，弃净上清。
- 加入500  $\mu$ l裂解液，用涡旋振荡器高速震荡10 sec，以便细胞被充分裂解。

#### 1C. 对于动物组织样品（适合内脏、胚胎、肿瘤等组织，不适合皮肤等坚韧组织）

- 取不多于5 mg组织样品放入1.5 ml离心管中，加入500  $\mu$ l裂解液，用研磨棒或组织匀浆机对组织样品进行匀浆。
- 室温静置5 min，以充分释放核酸。12000 g离心1 min。

### DNA结合（过DNA柱）

- 将细胞裂解产物或上述组织裂解产物的上清液（避免吸到沉淀）转移至DNA离心柱（Spin Column for DNA）中，4000 g离心1 min。将收集管中的流出液FT1转移至新的无RNase的1.5 ml离心管，用于RNA的提取，然后将收集管重新套回DNA离心柱中。

### DNA柱洗涤

- 加入500  $\mu$ l的Wash Buffer 1到DNA离心柱中，12000 g离心1 min后（注意：将离心柱从收集管中取出时，应小心操作，防止离心柱底部接触到液体），弃去收集管中的废液，将离心柱重新套回收集管中。
- 加入500  $\mu$ l的Wash Buffer 2到离心柱中，12000 g室温离心1 min。
- 倒掉收集管中的废液，然后将离心柱重新套回收集管中，12000 g空柱离心1 min。
- 弃去收集管，将离心柱转移至无RNase的1.5 ml离心管中，开盖晾干2 min。

### DNA洗脱

- 向DNA离心柱中央的膜上加入30~50  $\mu$ l洗脱液（Elution Buffer），室温放置2 min。
- 12000 g室温离心1 min；弃去离心柱，所得的DNA即可直接进行浓度测定及后续实验，或储存于-80°C备用。

### RNA结合（过RNA柱）

- 向FT1中加入等体积的无水乙醇，充分混匀，如果出现沉淀，建议用移液器吹打至沉淀不可见为止。
- 将上述混合液转移至RNA离心柱（Spin Column for RNA）中，4000 g离心1 min（若离心后柱中有液体残留，可用12000 g再次离心1 min），弃去收集管中的废液，将离心柱重新套回收集管中。

### RNA柱洗涤

- 加入500  $\mu$ l的Wash Buffer 2到离心柱中，12000 g离心1 min（注意：将离心柱从收集管中取出时，应小心操作，防止离心柱底部接触到液体）。
- 倒掉收集管中的废液，然后将离心柱重新套回收集管中，12000 g空柱离心1 min。
- 弃去收集管，将离心柱转移至无酶的1.5 ml离心管中，开盖晾干2 min。

### RNA洗脱

- 向RNA离心柱中央的膜上加入30~50  $\mu$ l洗脱液，室温放置2 min。
- 12000 g离心1 min（可选操作：在初次洗脱离心后，可以将液体加回离心柱，再放置5 min，使RNA充分溶解后再离心，能增加RNA产量）。
- 弃去离心柱，所得的RNA即可进行浓度测定及后续实验，或储存于-80°C备用。

# EZ-press DNA & RNA Purification Kit Trouble Shooting

1. 本产品纯化的DNA和RNA浓度太低，或qPCR结果不太好，Ct值过大，或某些特定基因不能正常扩增。

解决办法：

a. 检查所使用的试剂是否受到污染：可与未使用过的产品作对照，比较两组结果是否一致。建议产品开封后，每种Buffer分装为3~4份（可用15 ml离心管分装），每次使用时应严格按照规范操作，防止交叉污染。

b. 溶解好的引物应该分装为小份冻存，以减少引物降解及降低污染的可能性。

c. 检查操作流程是否正确。例如：

1. 整个DNA和RNA提取的操作过程必须在室温进行，不可置于冰上（直至洗脱离心后得到RNA方可置于冰上），以避免其间产生不溶物堵塞离心柱。

2. 首次使用前，请往Wash Buffer 1中加入20 ml的无水乙醇，往Wash Buffer 2中加入52 ml的无水乙醇，并充分混匀。

3. 建议细胞样品在裂解之前用PBS清洗一次。

4. 将DNA收集管中的含有RNA的流出液FT1转移至新的无RNase的离心管中，加入等体积的无水乙醇，充分混匀后，将混合液转移至RNA离心柱中进行RNA的提取，勿要将DNA收集管中的FT1倒掉。

5. 可选操作：在RNA结合步骤后，可向每个RNA离心柱中加入12  $\mu$ l稀释的gDNA Remover（2  $\mu$ l的gDNA Remover用10  $\mu$ l的ddH<sub>2</sub>O稀释）（独立提供），并在室温下放置5 min。

6. DNA离心柱的洗涤需要使用Wash Buffer 1和Wash Buffer 2分别清洗一次；而RNA柱的洗涤只需使用Wash Buffer 2清洗一次。

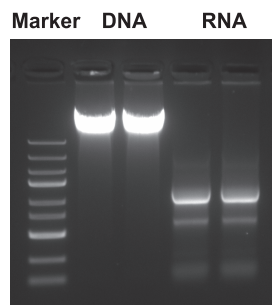
7. 清洗DNA离心柱和RNA离心柱时需用12000 g高速离心充分去除洗涤液，然后将离心柱转移至新的离心管中，开盖晾干2 min。

8. 洗脱液的体积可以根据需要在一定范围内调整（一般30~50  $\mu$ l，最少不可少于30  $\mu$ l，否则无法充分溶解RNA），以浓度满足后续实验需求为宜。

## 代表性实验结果

使用本产品从100万的293T细胞中提取DNA和RNA，2个重复。DNA和RNA洗脱体积均为30  $\mu$ l。如下为实验数据和琼脂糖凝胶电泳结果：

DNA	浓度 (ng/ $\mu$ l)	260/280	260/230
1	158.0	1.85	2.31
2	150.3	1.85	2.11
RNA	浓度 (ng/ $\mu$ l)	260/280	260/230
1	273.5	2.04	2.07
2	278.4	2.05	2.04



由图可见：本产品可以快速、高效地从同一样品中提取高质量的DNA和RNA。