

EZ-press Serum/Plasma RNA Purification Kit 使用指南

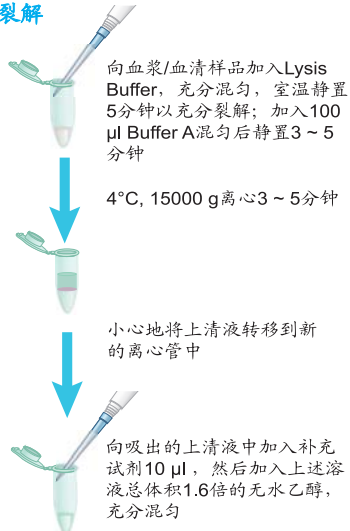
(Cat.No.:EZB-RN2)

使用本试剂盒前，请务必仔细阅读本使用指南，以保证操作正确

实验流程

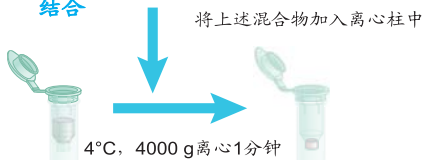
1. Sample Lysis

样品裂解



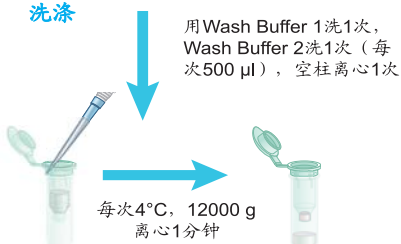
2. RNA Binding

RNA与离心柱结合



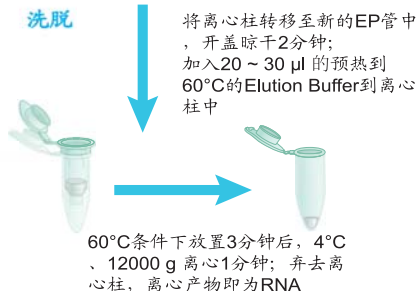
3. Column Washing

洗涤



4. RNA Elution

洗脱



注意：

1. 每瓶Wash Buffer使用前均须加入瓶身标签所示体积的无水乙醇混匀才可使用；
2. Elution Buffer使用前建议分装为3~4份保存，以防污染；
3. 本试剂盒用于血浆和血清样品中含microRNA的总RNA提取；
4. RNA洗脱时一定要将洗脱液加到柱中央的膜上，如果洗脱液加到侧壁上，会导致RNA没有被溶解而使产量大大减少。

样品裂解

1. 取50~200 μ l的血清/血浆，加入500 μ l Lysis Buffer（裂解液），用移液器充分吹打混匀。
2. 充分混匀后室温静置5分钟，以充分裂解。
3. 加入100 μ l Buffer A，用手剧烈振荡混匀15秒（不建议涡旋混匀），室温放置3~5分钟。
4. 15000 g（约13000 rpm），4°C离心3~5分钟，将上清液转移至新的1.5 ml EP管中（注意：吸取上层液体时不要吸到中间层和下层液体，否则可能会造成杂质残留，RNA纯度下降）。

RNA结合（过柱）

5. 向上述吸出的上清液中加入Supplemental Reagent（补充试剂）10 μ l，再加入上述溶液（上清液+补充试剂）总体积1.6倍的无水乙醇，充分混匀（如果加入无水乙醇后出现沉淀，建议用移液器吹打至沉淀不可见为止）。
6. 将上述混合液转移至RNA离心吸附柱（Spin Column）中，4000 g（约6500 rpm），4°C离心1分钟后，小心地取出离心柱，倒掉废液。倒掉废液后，可以将收集管口倒叩在吸水纸上几下，以吸去收集管口残留的液体。

洗涤

7. 加入500 μ l Wash Buffer 1到离心柱中，12000 g，4°C离心1分钟；小心取出离心柱，倒掉废液，将收集管口倒叩在吸水纸上几下，使收集管口残留的液体吸干净，然后再将离心柱套回收集管中（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）。
8. 加入500 μ l Wash Buffer 2到离心柱中，12000 g，4°C离心1分钟（洗柱）。倒掉废液，将收集管口倒叩在吸水纸上几下，使收集管口残留的液体吸干净。
9. 将离心柱套回收集管中，12000 g，4°C离心1分钟以充分去除残留的废液。
10. 弃去收集管，将离心柱转移至无RNase的1.5 ml EP管中，开盖晾干2分钟。

RNA洗脱

11. 将Elution Buffer（洗脱液）提前预热到60°C，吸取20~30 μ l加入离心柱中央的膜上，然后将上述套有离心柱的EP管在60°C的水浴锅或金属浴中放置3分钟，以溶解RNA。
12. 12000 g，4°C离心1分钟（可选操作：在初次洗脱离心后，可以将液体加回离心柱，再室温放置5分钟，使RNA充分溶解后再次离心，能增加RNA产量）。弃去离心柱，所得的RNA即可进行后续实验，或储存于-80°C备用。

EZ-press Serum/Plasma RNA Purification Kit Trouble Shooting

1、RNA产量过低，或用已经验证过的引物检测基因表达，检测到的内参基因Ct值偏大，或无法做出正常的扩增结果。

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。建议试剂盒开封后，每种buffer分装为2份（可用15、50毫升离心管分装），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. Wash Buffer使用前需加入标签所示体积的无水乙醇混匀才可使用；

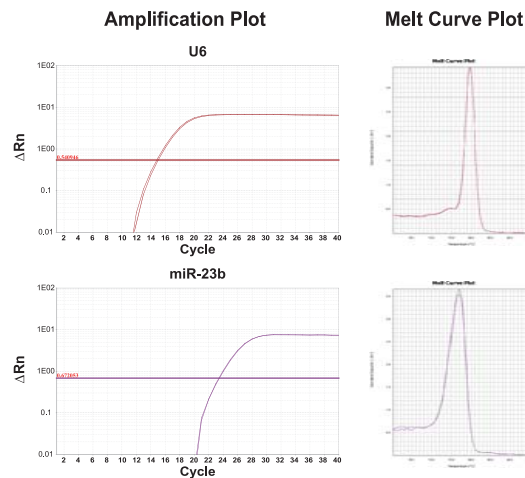
2. 向上清液中加入补充试剂10 μ l，充分混匀后再加入上述溶液（上清液 + 补充试剂）总体积1.6倍的无水乙醇，充分混匀后转移至到柱子中；

3. 洗涤时需用12000 g高速离心充分去除Wash Buffer，然后空柱离心一次，然后开盖晾干2分钟（此步骤可防止Wash Buffer残留在柱上）；

4. 洗脱液的体积可以根据需要在一定范围内调整（一般20 ~ 30 μ l，不可少于20 μ l，否则无法充分溶解RNA），以浓度满足后续实验需求为宜。重复洗脱一次及延长放置时间至5分钟均可提高RNA产量。

产品实测

本试剂盒用于提取 miRNA 的测试结果请见下图：



由上述qPCR的检测结果可见，本试剂盒能够很好的用于miRNA的提取。