

## 常见问题

### 1. 提取的 RNA 产量低或降解了

- 裂解问题: 样品在解冻前, 需要在Buffer RL 中快速匀浆。样品只能充分裂解后, 内源的核酸酶才能被灭活, RNA 才不会降解。
- 电泳原因: 常见的RNA 降解现象都是电泳过程中引起的。更换新的Loading Buffer 和电泳缓冲液。
- DEPC Water 被污染: DEPC Water 不含抑菌剂, 室温放置或操作时可能会引入细菌或真菌污染。更换新的DEPC 处理水。
- 样品贮藏问题: 反复解冻会引起RNA 降解, 确保样品解冻次数不要超过2 次。
- 洗脱不充分: RNase Free Water 需直接加到膜上, 并静置几分钟后再离心, 进行第二步洗脱以提高产量。

### 2. DNA 的污染

- 样品用量太多。
- 样品中含有丰富的基因组DNA, 样品在Buffer RL裂解匀浆后, 按1 mL Buffer RL 加入5  $\mu$ L 冰醋酸, 然后再加入ddH<sub>2</sub>O抽提。
- 加入 ddH<sub>2</sub>O 时没有剧烈振荡, 或采用涡旋代替振荡。
- ddH<sub>2</sub>O 过量加入。

### 3. 纯度低(OD260/OD280<1.65)

- 加入ddH<sub>2</sub>O时没有剧烈振荡, 不要用涡旋或颠倒混匀。
- ddH<sub>2</sub>O过量加入。
- 裂解不够充分, 匀浆后须室温放置5 分钟。
- 减少样品用量。



## EasyMag Universal RNA Purification Kit 通用型 RNA 提取试剂盒 (磁珠法)

### 产品概述

EasyMag Universal RNA Purification Kit采用一步法RNA抽提试剂和可特异性结合核酸的磁珠相结合, 可大大提高RNA的纯度和样品的广泛性。纯化的RNA可直接用于RT-PCR, 芯片分析, 二代测序, cDNA文库构建等运用。本试剂盒适合于从动物组织, 植物组织, 真菌样品, 细菌, 细胞, 血液等样品中快速抽提总RNA。

### 产品特点

- ❖ 高效去除 DNA - 一步法 RNA 抽提, 可高效去除基因组 DNA;
- ❖ 高品质 - 一步法 RNA 抽提试剂与磁珠法相结合, 可获得最高的纯度;
- ❖ 高通量 - 用磁珠法同时处理多个样品;
- ❖ 广泛 - 可处理各种生物样品, 包括动物, 植物, 细菌, 细胞, 血液等。

### 适用范围

从动物组织, 植物组织, 真菌样品, 细菌, 细胞, 血液等样品中快速抽提总 RNA。

### ABP Biosciences Inc

安迪福诺生物科技(武汉)有限公司

地址: 武汉市东湖新技术开发区高新大道666号

光谷生物城生物创新园C2-4栋五楼

电话: 400-066-7718 邮箱: info@abpbio.com

网址: www.abpbio.com www.abpbio.com.cn



## 试剂盒组分

| Kit Component    | R138-1<br>(50 preps) | R138-2<br>(200 preps) |
|------------------|----------------------|-----------------------|
| Buffer RL        | 55 mL                | 220 mL                |
| Buffer AW2*      | 10 mL                | 30 mL                 |
| DEPC Water       | 10 mL                | 30 mL                 |
| MagBinding Beads | 2.5 mL               | 10 mL                 |

\* Buffer AW2 使用前须按瓶子标签所示，加入无水乙醇进行稀释。

## 保存条件

本试剂盒可在室温保存 12 个月。长期保存时建议在2~8°C下避光保存。

## 实验准备

在使用之前，请仔细阅读本说明书，以便熟悉每一步的操作。

1. 按瓶子标签所示，加入适量的无水乙醇至 Buffer AW2 中，于室温保存。
2. 准备无核酸和核酸酶污染的 Tip 头、离心管。
3. 无水乙醇。
4. 准备 Lysozyme 裂解液：10 mM Tris-HCl (pH 8.0), 1 mM EDTA 加 Lysozyme 至终浓度 20 mg/mL，于 2-8 °C 保存。

## 实验步骤

1. 按下列方法对样品进行匀浆
  - ❖ 动物组织: 称取10-20 mg 动物组织到离心管中，加入1 mL Buffer RL，立即用研磨杵或匀浆器进行充分匀浆。
  - ❖ 植物和真菌: 用液氮将植物或真菌样品磨成粉末，称取50-100 mg 粉末至离心管中，立即加入1 mL Buffer RL，涡旋打散样品。
  - ❖ 贴壁细胞: 去除培养液，对10 cm<sup>2</sup> 培养面积，加入1 mL Buffer RL，移液枪吸打3-5 次，让细胞充分裂解。
  - ❖ 悬浮细胞: 500 x g 离心收集细胞(<5 x 10<sup>6</sup> 细胞)，去除培养液。涡旋或弹打松散细胞团。加入1 mL Buffer RL，移液枪吸打3-5 次。
  - ❖ 细菌: 离心收集(1 x 10<sup>8</sup> 细菌)，加入100 μL Lysozyme 裂解液处理10 分钟，然后加入1 mL Buffer RL，涡旋1 分钟。

❖ 血液: 取0.5 mL 新鲜或冻溶的血液，加入1.5 mL 1X RBC Lysis Buffer (需单独采购)，颠倒混匀 5 次。2,000 x g 离心 5 分钟。小心倒弃上清液，然后往白细胞沉淀加入1 mL Buffer RL，移液枪吸打3-5 次。

2. 室温放置5~10 分钟。
3. 加入400 μL ddH<sub>2</sub>O至裂解液中。用手剧烈振荡15 秒，室温放置5-15 分钟。

Note: 振荡必须快速而剧烈，缓慢颠倒混匀会导致抽提不充分。不能用涡旋取代振荡，涡旋混匀会带来更多的DNA 污染。ddH<sub>2</sub>O须按比例加入，过多的ddH<sub>2</sub>O会使DNA和蛋白质回到水相中，导致RNA 的纯度下降。

4. 室温 12,000 x g 离心15 分钟。

Note: 离心后 DNA 和蛋白质及多糖形成沉淀在离心管底部，而RNA保留在上清液中。

5. 转移上清液至新的离心管中，加入0.5 倍体积异丙醇和 50 μL MagBinding Beads，涡旋10秒。

Note: 若需获取小分子RNA，加入1.5 倍体积的异丙醇至上清液中。

6. 室温 (20-30°C) 放置 5 分钟，然后把离心管转移到磁力架上再室温静置 2 分钟，至溶液澄清。用移液枪小心吸弃上清，不要碰触磁珠。
7. 加入600 μL Buffer AW2 (已用乙醇稀释) 至离心管中，用移液枪或涡旋仪充分混匀。然后把离心管转移到磁力架上再室温静置 2 分钟，至溶液澄清。用移液枪小心吸弃上清，不要碰触磁珠。
8. 保持样品始终处于磁力架上，室温下开盖干燥磁珠约10 - 20 min。
9. 加入30~100 μL DEPC 处理水至离心管中，用移液枪或涡旋仪充分混匀。于55 °C 烘箱中放置 4 分钟，然后把离心管转移到磁力架上再室温静置 1 分钟，至溶液澄清。用移液枪小心吸取上清，并转移到新的离心管中。
10. (可选) 再加入 30~100 μL DEPC 处理水至含磁珠样品的离心管中，重新洗涤一次。
11. 把 RNA 保存于-80°C。