

## DispIn RNA micro Kit DispIn 微量 RNA 提取试剂盒

货号：DP206-01

规格：50 次

### 【产品简介】

本品为微量 RNA 提取的专用试剂盒。适用于从微量的细胞、组织、昆虫、植物、细菌等样品中提取总 RNA。处理范围一般为细胞 ( $1-5 \times 10^5$ ) 或者组织 ( $< 5\text{mg}$ )。配有 DNA 酶柱上消化试剂，得到的 RNA 无 DNA 残留，可直接用于下游荧光定量 PCR 或者高通量测序等试验。

### 【产品组分】

货号	组分	体积
DP206-101	裂解液 RLT Plus	25 ml
DP206-102	去蛋白液 RW1	40 ml
DP206-103	漂洗液 RW (首次使用前加入 42ml 无水乙醇)	10 ml
DP206-104	70%乙醇 (首次使用前加入 21ml 无水乙醇配成 70%乙醇)	9 ml
DP206-105	RNase-free Water	10 ml
DP206-106	Poly Carrier	200 ul
DP206-107	DNA 清除柱&RNA 吸附柱及收集管 (通用)	100 套
DP206-108	研磨杵	3 根

### 【产品特点】

1. 无垫圈离心柱设计确保离心后无液体残留和污染。保证了回收 DNA 高纯度。
2. 微量 10 $\mu\text{g}$  离心柱设计可以最低 6 $\mu\text{l}$  洗脱，保证了提取 RNA 的高浓度。
3. 独特的 DNA 清除柱及 RNA 吸附柱确保有效清除 gDNA 残留，得到的 RNA 不需要 DNase 消化，可直接用于后续实验，荧光定量 PCR、高通量建库等。
4. 本产品无需使用苯酚，氯仿等试剂，不用乙醇沉淀。

### 【保存条件】

常温保存，有效期 12 个月。

### 【注意事项】

1. 低温状态下会造成溶液沉淀，影响使用效果，因此运输和储存均在室温下 (15 $^{\circ}\text{C}$  - 25 $^{\circ}\text{C}$ ) 进行。
2. 避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、PH 值变化，各溶液使用后应及时盖紧盖子。
3. 所有的离心步骤均在室温完成。
4. 样品处理量不要超过 DNA 清除/RNA 吸附通用柱处理能力，否则造成 DNA 残留或者产量降低。如细胞处理量不超过  $5 \times 10^5$ ，组织不超过 5 mg。
5. 裂解液 RLT Plus 和去蛋白液 RW1 中含有刺激性化合物，操作时要戴乳胶手套，避免沾染皮肤，眼睛和衣服。若沾染皮肤、眼睛时，要用大量清水或者生理盐水冲洗。

6. 本产品采用独特的吸附柱及缓冲体系, 使得绝大多数 DNA 已经被清除, 不需要 DNase 消化, 可直接用于反转录荧光定量 PCR。如果下游实验对痕量 DNA 十分敏感, 可使用 DNase I 进一步清除 DNA 污染。

## 【使用方法】

### A. 注意事项

- 1) 首次使用前请先在漂洗液 RW 瓶和 70%乙醇瓶中加入指定量无水乙醇;
- 2) 如果处理的细胞量小于 5000 个或者处理组织量小于 10  $\mu\text{g}$  时, 匀浆前请在裂解液 中加入 4 $\mu\text{l}$  Poly Carrier。

#### 1. 培养细胞

A1. 贴壁细胞: 不需消化, 彻底吸干净培养液体后直接加 350  $\mu\text{l}$  裂解液 RLT Plus 反复吹打细胞裂解, 将裂解混合物全部加到 DNA 清除/RNA 吸附通用柱上 (通用柱放在收集管内) 直接接操作步骤 3; 不方便直接裂解的培养容器, 可以用细胞刮刮下细胞, 或者胰蛋白酶消化后吹打下来收集细胞到 1.5ml 离心管。

A2. 悬浮细胞: 收集 $<5 \times 10^5$  悬浮细胞到一个 1.5ml 离心管。

B. 13, 000rpm 离心 10 秒 (或者 300g 离心 5 分钟), 使细胞沉淀下来。完全吸弃上清, 留下细胞团, 注意不完全弃上清会稀释裂解液导致产量纯度降低。

C. 轻弹离心管底部, 使细胞沉淀松散, 加 350  $\mu\text{l}$  裂解液 RLT Plus, 用移液器反复吹打充分裂解 (直到看不细胞团为止)。

D. 将全部裂解混合物加到 DNA 清除/RNA 吸附通用柱上 (通用柱放在收集管内)。

E. 立刻接操作步骤 3。

#### 2. 动物组织 (例如鼠肝脑)

A1. 电动匀浆:  $<5\text{mg}$  组织加入 350 $\mu\text{l}$  裂解液 RLT Plus 后电动彻底匀浆 20-40 秒。

A2. 研磨杵+匀浆: 1.5ml 离心管内, 加入 100 $\mu\text{l}$  裂解液 RLT Plus, 加入 $<5\text{mg}$  组织立刻用微量研磨杵研磨匀浆完全。补足裂解液 RLT Plus 到 350 $\mu\text{l}$ 。

A3. 液氮研磨+匀浆: 在液氮中研磨组织成细粉后, 取适量组织细粉( $<5\text{mg}$ ) 转入装有 350  $\mu\text{l}$  裂解液 RLT Plus 的 1.5 mL 离心管中, 涡旋振荡 20 秒, 充分裂解。难裂解样品可用移液器反复吹打匀浆或者研磨杵帮助匀浆。

B. 将全部匀浆混合物加到 DNA 清除/RNA 吸附通用柱上 (通用柱放在收集管内)。

C. 立刻接操作步骤 3。

3. 立刻 13,000 rpm 离心 1 分钟, 保留过滤液 (RNA 在过滤液中)。

4. 用微量移液器较精确估计过滤液体积 (通常为 350  $\mu\text{l}$ ), 加入等体积的 70%乙醇 (请确保已加入无水乙醇), 此时可能出现沉淀, 但是不影响提取过程, 立即吹打混匀, 不要离心。

5. 立刻将混合物加入一个新的 DNA 清除/RNA 吸附通用柱中, (通用柱放入收集管中) 13,000 rpm 离心 30 秒, 弃掉废液。

6. 加 700 $\mu\text{l}$  去蛋白液 RW1, 室温放置 30 秒, 13, 000rpm 离心 30 秒, 弃掉废液。

7. 加入 500 $\mu\text{l}$  漂洗液 RW (请确保已加入无水乙醇), 13,000 rpm 离心 30 秒, 弃掉废液。加入 500 $\mu\text{l}$  漂洗液 RW, 重复一遍。

8. 将 DNA 清除/RNA 吸附通用柱放回空收集管中, 13,000 rpm 离心 2 分钟, 尽量除去漂洗液, 以免漂洗液中残留乙醇抑制下游反应。

9. 取出通用柱, 放入一个干净 1.5ml 离心管中, 根据预期 RNA 产量在吸附膜的中间部位加 10-20  $\mu\text{l}$  RNase free water (事先在 80-100°C 水浴中加热可提高产量), 室温放置 1 分钟, 13,000 rpm 离心 1 分钟得到 RNA 溶液。减少洗脱液体积可以提高 RNA 浓度, 但是最低洗脱液体积不应少于 6  $\mu\text{l}$ 。

## 【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时, 本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。在所有情况下, 本公司对此产品所承担的责任, 仅限于此产品的价值本身。