

DiSpin 组织/细胞 RNA 快速提取试剂盒

货号：DP228-01

规格：50 次

保存：15-25℃

【产品简介】

本产品适用于快速提取动物细胞和动物组织的总 RNA，在 DiSpin 无需苯酚、氯仿、β-巯基乙醇快速提取 RNA 的技术基础上，增加了基因组 DNA 清除柱，以便有效清除 gDNA，得到高纯度的总 RNA。得到的 RNA 可直接用于 RT-PCR、RT-qPCR、RNA 高通量测序建库芯片分析等实验。

【产品组分】

货号	组分	体积
DP228-101	裂解液 RLT Plus	30 ml
DP228-102	去蛋白液 RW1	35 ml
DP228-103	漂洗液 RW（首次使用前加入 42ml 无水乙醇）	10 ml
DP228-104	RNase-free Water	5 ml
DP228-105	DNA 清除/RNA 吸附通用柱&收集管	100 套

【保存条件】

室温保存，保质期一年。

【产品特点】

1. 本产品不需要使用苯酚、氯仿、β-巯基乙醇，也不需要乙醇沉淀。
2. 快速，简捷，单个样品操作一般可在 10 分钟内完成。
3. 独有的基因组 DNA 清除柱确保有效清除 gDNA、蛋白等杂质。
4. 提取得到的 RNA 完整性好，电泳图 28S: 18S 比值大于 2:1。
5. 多次柱漂洗确保高纯度，OD₂₆₀/OD₂₈₀ 比值达 2.1-2.2，基本无 DNA 残留，可用于 RT-PCR，Northern-blot 等实验。

【注意事项】

1. 所有的离心步骤均在室温完成，使用转速可以达到 13,000 rpm 的离心机。
2. 样品处理量不能超过基因组 DNA 吸附柱和 RNA 吸附柱处理范围，否则会造成 DNA 残留或者产量降低。不同的组织和细胞种类 RNA/DNA 有较大差别，例如胸腺脾脏 DNA 含量丰富，超过 5mg 就会超过柱子处理范围。COS 细胞 RNA 含量丰富，超过 3×10⁶ 细胞就会超过柱子吸附范围。在不清楚样品 DNA/RNA 含量时建议先使用较少的样品处理量，例如细胞不超过 3×10⁶，组织不超过 10mg，后面根据具体试验情况增加或者减少处理量。
3. 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。

4. 本产品可去除体系中大部分的DNA残留，纯化获得的RNA通常无需使用DNase I处理即可用于下游实验操作。不同样本核酸含量相差大，如果下游实验对痕量DNA十分敏感，可以使用DNase I进一步清除DNA污染。或者提取过程中进行DNase柱上消化。

【使用方法】

提示：首次使用前请先按漂洗液 RW 瓶标签指示加入无水乙醇后充分混匀，加入后请及时打钩标记已加入乙醇，避免重复加入。

一、样本处理

A. 贴壁细胞：无需消化，吸除细胞培养基上清后直接在培养皿中立即加入 500 μ l 裂解液 RLT Plus 消化裂解（可用移液器反复吹打帮助裂解）；不方便直接裂解的培养容器，可以用细胞刮刀刮下细胞，或者胰酶消化后离心收集细胞，去上清，细胞沉淀中加入 500 μ l 裂解液 RLT Plus ($< 8 \times 10^6$ 个细胞)，涡旋震荡或移液器吹打直至无明显细胞团即可。

提示：贴壁培养细胞往往不能完全从培养瓶（皿）脱落，这并不意味着裂解不完全，此时细胞膜实际已经完全破裂开，并已释放出全部 RNA，继续做即可。

B. 悬浮细胞：直接离心收集细胞，13,000 rpm 离心 10 sec，使细胞沉淀下来，吸除上清后加入 500 μ l Buffer RLT Plus ($< 8 \times 10^6$ 个细胞)，涡旋震荡或移液器吹打直至无明显细胞团即可。

C. 动物组织：取新鲜组织约 15-25 mg (< 30 mg) 加入 500 μ l 裂解液 RLT Plus，用玻璃匀浆器或电动匀浆器将组织研磨均匀。若用液氮研磨，在液氮中研磨组织成粉末后，取适量组织细粉 15-25 mg 转移至预装有 500 μ l Buffer RLT Plus 的 1.5 ml 离心管，涡旋震荡或移液器吹打直至无明显细胞团即可。

二、RNA 提取

1. 将处理好的匀浆液加到 DNA 清除/RNA 吸附通用柱上(柱子放在 2 ml 收集管内)，13,000 rpm 离心 1 min，丢弃通用柱，保留收集管中的滤液（RNA 在滤液中）。

2. 向滤液中加入 0.5 倍滤液体积的无水乙醇（约 250 μ l），移液器吹打混匀。**提示：**若加乙醇后出现浑浊或有絮状物产生，属正常现象，立即吹打混匀，不要离心。

3. 立即将上述混合液加入至一个新的 DNA 清除/RNA 吸附通用柱内（已放入收集管中），静置 1 min，13,000 rpm 离心 30 sec，弃滤液，将通用柱放回收集管。

4. 向通用柱中加入 700 μ l 去蛋白液 RW1，室温放置 30 sec，13,000 rpm 离心 30 sec，弃滤液。

5. 向通用柱中加入 500 μ l 漂洗液 RW（使用前请检查是否已加入无水乙醇），13,000 rpm 离心 15 sec，弃滤液。

6. 重复步骤 5 一遍。

7. 将通用柱放回空收集管中，13,000 rpm 空甩离心 2 min。尽量除去漂洗液，以免漂洗液中残留乙醇抑制下游反应。

8. 将通用柱转移至新的 1.5 ml 离心管中，向通用柱膜中央悬空滴加 30-50 μ l 的 RNase-free ddH₂O，静置 1 min，13,000 rpm 离心 1 min。

提示：1、洗脱体积建议不少于 30 μ l，体积过小会影响核酸回收效率。2、以下步骤都可以帮助提高 RNA 产物浓度：（1）RNase-free ddH₂O 于洗脱前先在 90° C 预热；（2）将第一次洗脱液重新加入通用柱进行第二次洗脱。

9. 提取的 RNA 可直接用于下游实验或置于-70°C 保存。

【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，承诺为您更换等量合格产品，本公司对此产品所承担的责任仅限于产品价值本身。