

**EASYspin Plus RNA micro Kit****EASYspin Plus 超微量 RNA 快速提取试剂盒**

目录号: RN68

## ❖ 试剂盒组成、储存、稳定性:

试剂盒组成	保存	50 次(RN6801)
裂解液 RLT Plus	室温	25 ml
去蛋白液 RW1	室温	40 ml
漂洗液 RW	室温	10 ml <i>第一次使用前按说明加指定量乙醇</i>
70%乙醇	室温	9 ml <i>第一次使用前按说明加指定量乙醇</i>
RNase-free H <sub>2</sub> O	室温	10 ml
Poly Carrier	-20℃	200μl
超微量 DNA 清除/RNA 吸附 通用柱和收集管	室温	100 套
微量研磨杵	室温	3 根

本试剂盒在室温储存 12 个月不影响使用效果。Poly Carrier 常温运输, 4℃可存放一个月, 长期保存置于-20℃保存

## 储存事项:

1. 不合适的储存于低温 (4℃或者-20℃) 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℃-25℃) 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。

## ❖ 产品介绍：

本品为超微量 RNA 提取的专用试剂盒。适用于从超微量的动物细胞、微切割组织和易裂解动物组织等样品提取总 RNA。处理范围一般为细胞 ( $1-5 \times 10^5$ ) 或者组织 ( $< 5\text{mg}$ )。采用独家研发 DNA 清除/RNA 吸附通用柱技术配合特殊试剂配方不需 DNA 酶消化，有效清除 gDNA 残留，得到的 RNA 无 DNA 残留，可直接用于下游反转录荧光定量 PCR 或者高通量测序建库等试验。

## ❖ 产品特点：

1. 特殊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 RNA 高纯度。
2. 特殊超微量  $10\ \mu\text{g}$  离心柱设计可以最低  $6\ \mu\text{l}$  洗脱，极大提高了 RNA 的浓度。
3. 独家研发成功 DNA 清除/RNA 吸附通用柱技术确保有效清除 gDNA 残留，得到的 RNA 不需要 DNase 消化，可直接用于反转录荧光定量 PCR、高通量测序建库等实验。
4. 完全不使用有毒的苯酚，氯仿等试剂，也不需要乙醇沉淀等步骤。

## ❖ 注意事项

1. 所有的离心步骤均在室温完成。
2. 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 $5\ \text{mg}$ 。
3. 本试剂盒采用超微量离心柱的最佳设计，理论上最低可以提取单细胞。
4. 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。
5. 本公司的EASYspin Plus RNA提取产品，由于采取了本公司独特的缓冲体系和DNA清除/RNA吸附通用柱/特殊试剂配方技术，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。或者在提取的时候在离心柱上直接进行DNA酶柱上消化（艾德莱货号：RN34 DNA酶柱上消化试剂盒）

❖ **操作步骤：（实验前请先阅读注意事项）**

**提示：**

- ⇒ 第一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!
- ⇒ 如果处理的细胞量小于 5000 个或者处理组织量小于 10 μg 时，匀浆前请在裂解液中加入 4μl 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 μl 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，可以用细胞刮子刮下细胞，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 μl 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 350μl 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 100μl 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 350μl。

**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 μl 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，保留滤过液（**RNA 在滤过液中**）。
4. 用微量移液器较精确估计滤过液体积（通常为 350  $\mu$ l），加入等体积的 70% 乙醇（**请先检查是否已加入无水乙醇!**），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 $\mu$ 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 $\mu$ l 漂洗液 RW（**请先检查是否已加入无水乙醇!**），13,000 rpm 离心 30 秒，弃掉废液。加入 500 $\mu$ 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  $\mu$ l RNase free water（事先在 80-100 $^{\circ}$ 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  $\mu$ l。**