

Simply P Total RNA Extraction kit

Simply P 总 RNA 提取试剂盒

TECHNICAL SUPPORT:

For technical support, please dial phone number : 0086-571-87774567-5215 or 5211,
or fax to 0086-571-87774553

Email to reagent@bioer.com.cn.

Website: www.bioer.com.cn

试剂盒组成

货号	BSC52S1	BSC52M1
试剂盒组成	50 人份	100 人份
Solution R1	10ml	20ml
Solution R2	30ml	60ml
Wash buffer	15ml (使用前加入 45ml 无水乙醇)	30ml (使用前加入 90ml 无水乙醇)
Elution Buffer	10ml	20ml
Spin columns	50	100
说明书	1 份	1 份

储存与运输

- ◆ Simply P 总 RNA 提取试剂盒于室温保存，有效期为 2 年。
- ◆ 可在常温下运输。

介绍

本试剂盒是一种总 RNA 提取试剂,可直接用于血液、动物/植物组织、培养细胞、细菌等细胞或组织中的总 RNA 提取。处理好的样本通过加入 Solution R2 处理后直接过柱，即可得到总 RNA。

本试剂盒操作简便易行,可以同时处理多个样品,得到高质量的 RNA。纯化的 RNA 可以直接用于 RNA 印迹分析、斑点杂交、poly(A)+ 选择、体外翻译、RNA 酶保护分析 RT-PCR 分析、构建 cDNA 文库等 RNA 研究。

基本技术参数

提取方法	操作时间	离心柱容积	得率
离心柱	7~15 分钟内完成	750μl	≥90%

样本	样本量
血液	≤100ul
动/植物组织	3~30mg
培养细胞	≤2×10 ⁶ 细胞
体液	1~10ml
细菌	1ml

需要的配套设备和材料

- * 无菌无酶的1.5ml离心管
- * 离心机（最大转速>14,000rpm）
- * 漩涡振荡器
- * 无菌无酶的各种规格移液器吸头
- * 无酶无水乙醇

重要提示

Wash Buffer 在使用前请先按照瓶身标签标明体积加入无水乙醇，并将其混匀。

操作步骤

1. 样本预处理

a) 抗凝全血:

直接取全血($\leq 100\ \mu\text{l}$)加等量的 Solution R1, 振荡混合 30s, 室温静置 1min, 放入 1.5ml 离心管中进入下一步(大于 100ul 全血样本, 请先用红细胞裂解液或淋巴细胞分离液处理获得白细胞后, 按照悬浮细胞方法提取;

b) 白细胞

全血抽取后尽快离心 ($3,000\text{rpm} \times 10\text{min}$) 吸取白膜层, 或用红细胞裂解液/淋巴细胞分离液分离获取白细胞(推荐使用本公司 cat# BSA06M1 或者 cat# BSA07M1), 然后最多取 $100\ \mu\text{l} / 2 \times 10^6$ 细胞 1.5ml 离心管中, 加入 100ul 的 Solution R1, 振荡混合 30s, 室温静置 1min, 进入下一步;

c) 组织块:

取不大于 30mg 组织, 于液氮中研磨, 取出放入 1.5ml 离心管中进入第 2 步; d) 培养细胞:

悬浮细胞: 将悬浮细胞最多 2×10^6 细胞离心 ($3,000\text{rpm} \times 2\text{min}$) 后弃上清, 加入 100ul Solution R1, 振荡混合 30s, 室温静置 1min, 进入下一步;

贴壁细胞: 收集 2×10^6 个细胞到 1.5ml 离心管中, 加入 100ul Solution R1, 振荡混合 30s, 室温静置 1min, 进入下一步;

e) 体液及其它液体性样本(尿液、腹水、胸水、脑积液等)

可以直接取样本 $100\ \mu\text{l}$ 放入 1.5ml 离心管进入下一步;

f) 细菌

取适量细菌培养液(最多 2×10^6 个细菌), 离心 $5,000\text{rpm} \times 1\text{min}$, 弃上清, 加入 100ul 的 Solution R1, 振荡混合 30s, 室温静置 1min, 进入下一步;

2. 处理好的样本中, 加入 Solution R2 $600\ \mu\text{l}$, 充分颠倒混匀, 室温静置 3-5min。此步骤不可离心, 取上清时尽量避免洗到悬浮杂质, 以避免下步离心时堵塞离心柱。

3. 将上清液吸入 Spin column, Spin column 要套上离心管, 离心 30s。

4. 弃去外套管中液体, 向 Spin column 中加入 $600\ \mu\text{l}$ Wash Buffer, 离心 30s, 弃去接液管中液体。重复洗涤一次。然后空柱于 10000rpm 离心 1 分钟后将离心柱转移到一个新 1.5ml 离心管。

5. 将 Spin column 移入新的 1.5ml 离心管中, 在膜中央加入 Elution Buffer (或 $\text{pH} > 7.0$ 的 DEPC 处理水) $20-50\ \mu\text{l}$, 室温静置 1min, 离心 30s, 获得总 RNA。

常见问题及对策

1. 试剂盒室温保存, 保质期 2 年。

2. 离心速度除已说明外均为 $12,000\text{rpm}-14,000\text{rpm}$, 室温离心(有条件可 4°C 离心)。

3. 首次使用时在 Wash Buffer 瓶中加入标签标明量的无污染的无水乙醇, 拧紧瓶盖, 并混合均匀。

4. 避免环境中 RNA 酶污染, 操作要戴手套, 所有枪头和 eppendorf 管以 DEPC 水处理, 移液枪保证洁净无 RNA 酶污染。如果把试剂放在超净台(普通超净台或专用的桌面 PCR 超净台)中操作, 可以有效减少 RNA 酶污染。

5. 有时实验者发现样本中加入 Solution R2 后, 出现白色絮状、丝状沉淀, 这是 DNA 析出, 对 RNA 提取影响不大。避免这种情况的方法是: 降低细胞密度(不要超过 2×10^7 细胞/ml), 加入 Solution R2 前充分振荡混匀细胞悬液, 加入 Solution R2 后稍等片刻后再振荡。

6. 样本上清液加入 Spin column 中离心 30s 结束后, 如 Spin column 中仍有液体, 表明样本超量或裂解不完全导致吸附膜阻塞。处理方案是: a. 减少样本量; b. 加入 Solution R2

后充分震荡；c. 如已发生阻塞又不想放弃此标本，可用加样枪头划破离心柱膜的表层，再重新离心 1min。

7. 尽量保证在膜中央加入 Elution buffer 25 μ l–100 μ l，低于 25 μ l 将不能保证吸附膜被充分浸润。
8. 如果获得的总 RNA 出现有基因组 DNA 污染，表明操作失误，如样本中液体量超过 200 μ l（一般加入 100 μ l–150 μ l），或者 Solution R2 量少于 500 μ l（要求加入 600 μ l）
9. 提取的总 RNA 置于 4℃或冰浴中，立即用于下游实验（如 RT-PCR）；或立即置于–80℃冰箱保存。无论采用何种方法提取和保存的 RNA，都往往会被很快降解，因而建议避免提取 RNA 后保存。建议先将标本（细胞、组织）保存在 RNA 保存液或液氮中，来保证 RNA 质量不受影响，用试剂盒抽提仍可以获得高质量的总 RNA。