

Biospin Total RNA Extraction Kit

Biospin 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	BSC63S1	BSC63M1
试剂盒组成	50 人份	100 人份
RLysis Buffer	8.75ml	17.5ml
RD Buffer	17.5ml	35ml
DNase Buffer	2ml	4ml
MnCl ₂	450ul	900ul
DNase I	50ul (保存于-20℃)	100ul (保存于-20℃)
DNase Stop Buffer	5 ml (使用前加入 6.5 ml 无水乙醇)	10 ml (使用前加入 13 ml 无水乙醇)
Wash Buffer	32 ml (使用前加入 48 ml 无水乙醇)	32 ml (使用前加入 48 ml 无水乙醇)×2
RElution Buffer	10ml	20ml
Spin columns	50	100
说明书	1 份	1 份

储存与运输

- ◆ 该提取试剂盒于室温保存，DNase I 保存于-20℃，有效期为 18 个月。
- ◆ 试剂盒可在常温下运输。

介绍

本试剂盒可直接从各类样本中，如动物组织、细胞、细菌等（不推荐植物组织）提取总 RNA。首先使用 RLysis Buffer 处理样本，RD Buffer 去除蛋白，DNase I 去除 DNA，加入乙醇后使得 RNA 结合于 Spin column，再经过洗涤、洗脱操作即可得到 RNA。

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

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
- * β-巯基乙醇

重要提示

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

Wash Buffer 在使用前请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. 取 175 μ l Rlysis Buffer 加入 1.5 或 2.0ml 微量离心管中，加入不多于 30mg 经液氮研磨的样本，并振荡混合均匀。对于液体状态样本，请加入 75 μ l Rlysis Buffer 与 100 μ l 样本。
2. 加入 350 μ l 的 RD Buffer，混合均匀后，于 70°C 环境中温浴 4 分钟。对难于裂解的样本请适当延长温浴时间。
3. 于 12,000 rpm 离心 10 分钟，吸取上清液至新离心管中。
4. 加入 200 μ l 无水乙醇，并混合均匀。将混合液体转移至 Spin column。于 12,000 rpm 离心 1 分钟，并弃去接液管中液体。
5. 向 Spin column 中加入 600 μ l 的 Wash Buffer，于 12,000 rpm 离心 1 分钟，并弃去接液管中液体。
6. 将预先混合的 40 μ l DNase Buffer、9 μ l MnCl₂和 1 μ l DNase I 加入 Spin column 中，室温放置 15 分钟
7. 向 Spin column 中加入 200 μ l 的 DNase Stop Buffer 。于 12,000 rpm 离心 30 秒，并弃去接液管中液体。
8. 向 Spin column 中加入 600 μ l 的 Wash Buffer，于 12,000 rpm 离心 30 秒，并弃去接液管中液体。
9. 向 Spin column 中加入 250 μ l 的 Wash Buffer，于 12,000 rpm 离心 60~120 秒，并转移至一个新的 1.5ml 离心管 (RNase free) 。
10. 向 Spin column 中加入 50–100 μ l RElution Buffer，并于室温温育 1 分钟。
11. 于 12,000 rpm 离心 1 分钟，并弃去 Spin column。1.5ml 离心管中液体含有 RNA。
12. 提取的 RNA 可直接用于各种下游应用实验，如不立即使用，请于-80°C 保存。

常见问题及对策

1. 试剂盒（除DNase I外）室温保存，买到试剂盒后，请及时将DNase I保存于-20 °C，保质期18个月。
2. 离心速度除已说明外均为12,000rpm，室温离心（有条件可4°C离心）。
3. RNA 在提取过程中可能会受到各种氧化作用的干扰，从而导致 RNA 提取得率下降或不稳定，特别是在氧化酶含量丰富的样本中尤为明显。在 Rlysis Buffer 中添加 β -巯基乙醇可有效抑制这些干扰，添加比例为 20 μ l β -Me/ml Rlysis Buffer，加入 β -巯基乙醇后的 Rlysis Buffer 应保存于 4°C。
4. DNase I 反应是在结合膜上进行，应特别注意避免 RNA 酶的污染。DNase Buffer、MnCl₂ 与 DNase I 混合后不用低温再次保存，以免使用时温度过低而造成消化不充分。
5. 首次使用时在 DNase Stop Buffer 和 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。
6. 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。
7. 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。
8. 提取的总 RNA 置于 4°C 或冰浴中，立即用于下游实验（如 RT-PCR）；或立即置于 -80°C 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 RNA。

实验举例：提取小鼠肝脏 RNA

