

Total RNA Extraction Reagent Plus

总 RNA 提取试剂(免氯仿)

产品编号	产品名称	规格
BL1620A	总 RNA 提取试剂(免氯仿)	100 mL

产品简介:

本试剂盒是基于异硫氰酸胍/酚的广谱型总 RNA 提取试剂, 具有极强的裂解能力, 可在短时间内裂解细胞和组织样本, 并有效抑制 RNase 活性, 从而有效防止 RNA 在提取过程中的降解, 保证 RNA 的完整性。同时本产品使用 RNA Extraction Buffer 替代氯仿, 操作更安全。

本产品适用于次生代谢较少的植物组织(如幼苗、幼叶等)、培养细胞、动物组织、微生物。提取过程可在 1 h 内完成, 提取的总 RNA 纯度高、完整性好, 最大限度的去除了蛋白质和基因组 DNA 等杂质, 可以直接用于 RT-PCR、Northern Blot、体外翻译及 mRNA 纯化等实验。

产品特点:

- ◇ 安全性高: 使用 RNA Extraction Buffer 替代氯仿;
- ◇ 适用范围广;
- ◇ 操作简单快速, 整个过程可在 1 h 内完成;
- ◇ 操作可视, 溶液呈粉红色, 便于分离水相及有机相。

产品组分:

编号	组分	规格
1	Total RNA Extraction Reagent Plus	100 mL
2	RNA Extraction Buffer	20 mL

使用方法:

客户自备试剂: 异丙醇、75%乙醇(用 RNase-free 水配制)、RNase-free 水

1. 样本处理:

1.1 动物/植物组织:

- (1) 取新鲜组织立即用液氮速冻, 迅速转移至液氮预冷的研钵中充分研磨, 期间不断加入液氮, 直至研磨成粉末状(无明显可见颗粒);
- (2) 将研磨至粉末状的样品转移到离心管中, 每 50~100 mg 样品加入 1 mL Total RNA Extraction Reagent Plus, 匀浆处理;
- (3) 室温静置 5 min (使核酸蛋白复合物完全分离)

注: 样品体积一般不要超过 Total RNA Extraction Reagent Plus 体积的 10%, 若取样量过多会导致提取的 RNA 中有 DNA 污染。

1.2 贴壁细胞

- (1) 倒出培养液, 用 1×PBS 清洗 1 次;
- (2) 每 10 cm² 培养面积生长的细胞中加入 1 mL Total RNA Extraction Reagent Plus, 轻微晃动, 使本产品充分覆盖到细胞表面, 使用移液枪反复吹打使细胞裂解;
- (3) 将含有细胞的裂解液转移至离心管中, 用移液枪反复吹打直至裂解液中无明显沉淀;
- (4) 室温静置 5 min。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。



1.3 悬浮细胞

- (1) 将悬浮培养细胞连同培养液一起倒入离心管中， $8,000\times g$ 4°C 离心 2 min 收集细胞；
- (2) 每 $5\times 10^6 \sim 1\times 10^7$ 个细胞加入 1 mL Total RNA Extraction Reagent Plus，用移液枪反复吹打直至裂解液中无明显沉淀；
- (3) 室温静置 5 min。

1.4 血液

- (1) 直接取新鲜的血液，加入 3 倍体积的 Total RNA Extraction Reagent Plus（推荐 0.2 mL 全血加入 0.6 mL Total RNA Extraction Reagent Plus），充分振荡混匀；
- (2) 室温静置 5 min。

注意：样品经 Total RNA Extraction Reagent Plus 匀浆后，可在 -80°C 保存至少一个月。

● 可选步骤：对于蛋白、脂肪、多糖或胞外物质含量高的样品，如肌肉组织、脂肪组织或植物的块茎，可以在匀浆处理后 $12,000\times g$ 4°C 离心 10 min 以除去不溶物质，取澄清的匀浆溶液进行下一步操作。

2. 向上述裂解液中加入 1/5 Total RNA Extraction Reagent Plus 体积的 RNA Extraction Buffer，盖好管盖，剧烈振荡 15 s（彻底混合有利于后续的分相），溶液呈乳浊状，室温静置 5 min；
3. $12,000\times g$ 4°C 离心 15 min。此时样品分为 3 层，即上层无色的水相（含 RNA）、中间层和下层粉红色的有机相。小心吸取上层水相（水相体积约占 Total RNA Extraction Reagent Plus 体积的 60%，建议吸取 500 μL 左右，避免吸取到中间层导致基因组 DNA 的污染）转移至新的离心管中；
4. 加入等体积的异丙醇，上下颠倒混匀，室温放置 10 min；
5. $12,000\times g$ 4°C 离心 10 min，去上清，此时管底会出现白色胶状沉淀，即 RNA；
6. 加入 1 mL 75%乙醇（用 RNase-free 水配制）洗涤沉淀。 $7,500\times g$ 4°C 离心 5 min，弃去上清；
7. 重复步骤 6；
8. 室温晾干 5~10 min。加入适量的 RNase-free 水溶解沉淀，必要时可用移液器轻轻吹打或在 $55 \sim 60^{\circ}\text{C}$ 孵育 5~10 min，待沉淀完全溶解后将所得到的 RNA 溶液置于 -80°C 保存或用于后续试验。

注意：不能使用真空离心机或加热的方法干燥 RNA，过分干燥会使 RNA 难以溶解，导致 OD260/OD280 值偏低。

注意事项：

1. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品；
2. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期：

4°C 保存，一年有效。

