



RNA 总提取试剂-Plus

目录号

MG-TQ-02

产品组成

组分	规格
RNA 总提取试剂-Plus	100mL
RNA 提取缓冲液	20mL

保存条件

2~8℃避光保存 12 个月。

产品简介

RNA 总提取试剂-PLUS 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，保证 RNA 的完整性。同时本产品使用 RNA 提取缓冲液替代氯仿，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 1h 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、NorthernBlot、体外翻译及 mRNA 纯化等实验。

产品特点

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

适用范围

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、微生物样品的总 RNA 提取。

注意事项

1. 本产品含有苯酚等物质，使用时应穿戴防护物品，避免沾染皮肤、眼睛及衣物，防止口鼻吸入。

本产品仅供科研使用



如不慎沾染皮肤或眼睛，立即用大量清水或生理盐水冲洗，必要时寻求医生帮助。

2. 使用 RNase-free 的实验器具，包括枪头和离心管，并且 RNA 实验用的器具需专门使用，不要用于其它实验，避免交叉污染。

使用方法

操作示例

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

1. 样品准备

1.1 动物/植物组织

a. 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)；

b. 将研磨至粉末状的样品转移到离心管中，每 50~100mg 样品加入 1mLRNA 总提取试剂-PLUS，匀浆处理；

c. 室温静置 5min（使核酸蛋白复合物完全分离）。

注意：样品体积一般不要超过 RNA 总提取试剂-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

a. 倒出培养液，用 1×PBS 清洗 1 次；

b. 每 10cm² 培养面积生长的细胞中加入 1mLRNA 总提取试剂-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；

c. 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；

d. 室温静置 5min。

1.3 悬浮细胞

a. 将悬浮培养细胞连同培养液一起倒入离心管中，8,000×g 4℃离心 2min 收集细胞；

b. 每 5×10⁶~1×10⁷ 个细胞加入 1mLRNA 总提取试剂-PLUS，用移液枪反复吹打直至裂解液中无明显沉淀；

c. 室温静置 5min。

1.4 血液

a. 直接取新鲜的血液，加入 3 倍体积的 RNA 总提取试剂-PLUS（推荐 0.2mL 全血加入 0.6mLRNA 总提取试剂 PLUS），充分振荡混匀；

b. 室温静置 5min。

注意：样品经 RNA 总提取试剂-PLUS 匀浆后，可在-80℃保存至少一个月。

本产品仅供科研使用



可选步骤:

- 1.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 10min 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 1/5RNA 总提取试剂-PLUS 体积的 RNA 提取缓冲液,盖好管盖,剧烈振荡 15s (彻底混合有利于后续的相分离),溶液呈乳浊状,室温静置 5min;
3. $12,000\times g$ 4°C 离心 15min。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 RNA 总提取试剂体积的 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 10min;
5. $12,000\times g$ 4°C 离心 10min,去上清,此时管底会出现白色胶状沉淀;即 RNA;
- 6.加入 1mL75%乙醇(用 RNase-free 水配制)洗涤沉淀。 $7,500\times g$ 4°C 离心 5min,弃去上清;
- 7.重复步骤 6;
- 8.室温晾干 5~10min。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 5~10min,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。

常见问题与解决办法

Q1: RNA 得率较低?

A1:

1. 样品研磨或裂解不充分。建议参考说明书充分研磨、振荡样品,使样品充分裂解;
2. 取样量较少。适当增加样品量;
3. RNA 沉淀未完全溶解。RNA 不能过分干燥,必要时用移液器轻轻吹打或在 $55\sim 60^{\circ}\text{C}$ 孵育 5~10min。