

## Cytzol Total RNA Extraction Reagent Plus

### 一. 产品描述

Cytzol Total RNA Extraction Reagent 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 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、Northern Blot、体外翻译及mRNA纯化等实验。

### 二. 订购信息

产品名称	货号	产品组成	规格
Cytzol Total RNA Extraction Reagent Plus	MB0002	Cytzol Total RNA Extraction Reagent	100mL
		RNA Extraction Buffer	20mL

### 三. 运输与保存

4°C避光保存，有效期 12个月。

### 四. 使用方法

**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。

**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

- 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）；
- 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 Cytzol Reagent匀浆处理；
- 室温静置5 min（使核酸蛋白复合物完全分离）。

**注意：** 样品体积一般不要超过 Cytzol Reagent 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

- 倒出培养液，用1×PBS 清洗1次；
- 每10cm<sup>2</sup> 培养面积生长的细胞中加入1 ml Cytzol Reagent，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；
- 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；
- 室温静置5 min。

##### 1.3 悬浮细胞

- 将悬浮培养细胞连同培养液一起倒入离心管中，8,000×g 4°C 离心2 min 收集细胞；
- 每5×10<sup>6</sup>~1×10<sup>7</sup>个细胞加入1ml Cytzol Reagent，用移液枪反复吹打直至裂解液中无明显沉淀；
- 室温静置5 min。

##### 1.4 血液

a. 直接取新鲜的血液，加入3倍体积的 Cytzol Reagent（推荐0.2 ml 全血加入0.6 ml Cytzol Reagent），充分振荡混匀；

b. 室温静置5 min。

**注意：样品经 Cytzol Reagent 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 Cytzol Reagent体积的 RNA Extraction Buffer，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 Cytzol Reagent 体积的60%，建议吸取 500  $\mu$ l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；

6. 加入1ml 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55~60°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。**

## FAQ

### 1、RNA降解

- 1) 样品处理或保存不当。尽量使用新鲜样品，取样后立即液氮速冻置于-80°C冰箱保存，尽快使用；
- 2) 样品过量。请参考说明书推荐取样量；
- 3) 环境、试剂或耗材中含有RNase。使用 RNase-free 的试剂及耗材，建议在通风橱中操作。

### 2、RNA得率较低

- 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55~60°C孵育5~10min。保存。

## 五. 注意事项

1. 本产品仅限于科学实验研究使用，不得用于临床诊断、治疗等领域。
2. 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。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。
3. 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。