

Cytzol Total RNA Extraction Reagent (No Chloroform)

一. 产品描述

Cytzol Total RNA Extraction Reagent (No Chloroform) 是传统 Trizol 的免氯仿升级版，广泛适用于从各类动物组织、植物材料、培养细胞、细菌等样品中提取Total RNA和Small RNA。与传统 Trizol 提取方法相比，本产品不需要使用氯仿进行分层，操作更简单，且全程可在常温进行。

本产品提取的RNA基本不残留DNA，提取的RNA可以直接用于cDNA克隆、qRT-PCR检测、mRNA纯化、体外翻译、Northern blotting杂交、高通量测序等各种分子生物学实验。。

二. 订购信息

产品名称	货号	规格
Cytzol Total RNA Extraction Reagent (No Chloroform)	MB0003	100mL

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：绝大部分常规动物组织细胞（如：肝脏、肾脏、脑组织、培养细胞）、简单植物组织（如水稻、玉米、拟南芥、烟草、小麦等）都有良好效果。但是对于多糖多酚植物如棉花，某些难破壁的细菌等样品不适用。

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 植物组织

取新鲜植物组织在液氮中充分研磨或将植物组织剪碎后直接在 Cytzol 中迅速研磨，每25 - 50 mg组织加入0.5 mL Cytzol，混匀。

1.2 动物组织

取新鲜或-70° C冻存动物组织尽量剪碎，每15 - 50 mg组织加入0.5 ml Cytzol，匀浆仪进行匀浆处理。或在液氮中研磨后加入0.5 mL Cytzol 混匀。

1.3 单层培养细胞

尽量去除干净残留培养液后直接往直径3.5 cm 的培养板中加入0.5mL Cytzol 覆盖并反复吹打裂解细胞。依据培养板的面积而不是依据细胞的数量来决定所需的 Cytzol 量（每10 cm²加0.5 mL）。当 Cytzol 量不足时可导致抽提的RNA中污染有 DNA。

注意：贴壁培养细胞往往不能完全从培养瓶（皿）脱落，这并不意味着裂解不完全，此时细胞膜实际已经完全破裂开，并已释放出全部RNA，继续做即可。

1.4 细胞悬液

离心收集细胞。在 Cytzol 试剂中用移液管反复吹打来裂解细胞。每1 - 5×10⁶ 的动物细胞，植物细胞或每5×10⁶细菌加0.5 mL Cytzol。在加入Cytzol 前应避免洗涤细胞，因为那样会增加mRNA降解的可能性。破裂某些细菌可能需要使用匀浆器。

1.5 液体样本

每200 μ L（低于200 μ L时，可用普通去离子水或者纯水补足）血浆、血清等液体样本，加入0.5mL Cytzol 后振荡混匀。

2. 向上述裂解液中加入2/5体积的去离子水或者纯水（普通实验室用水即可，不需要RNase-free，每500 μ L Cytzol 加200 μ L 水），剧烈振荡混匀，室温静置5 min。

注意：当处理样本量较大50 mg 左右时，可延长室温静置时间到10 - 15 min。

3. 室温12,000 rpm离心15 min；

4. 离心后溶液分成上层水相(含RNA)和下层沉淀(含蛋白质、DNA、多糖等杂质)，小心吸取上层水相至一个新的离心管中。

注意：上层水相约占总体积的90%，如用500 μ L Cytzol 进行提取，上层水相约为630 μ l，建议吸取500 μ l；提取微量样本时，为减少RNA损失，可以全部转移上清。

当样本量较小时，离心后可能不会出现下层沉淀，属于正常现象，可继续按后续步骤完成提取。

5.加入等体积异丙醇，颠倒混匀，室温静置10 min；

6. 室温12,000 rpm离心10 min。通常可以看见白色沉淀，小心弃去上清；

注意：RNA沉淀在离心前通常不可见，离心后在管侧壁和管底形成薄片状沉淀（样品量少的情况下，RNA沉淀散在管侧壁和管底有可能看不到明显沉淀）。部分组织材料由于含有较多的代谢产物，导致沉淀不能聚集而分散在离心管壁上，此时，请沿液面缓慢吸取上清。

7. 加入1 ml 75%乙醇(RNase-free ddH₂O配制)漂洗，涡旋震荡15 sec，让沉淀悬浮起来，并上下颠倒数次。

8. 室温12,000 rpm离心3 min，小心弃上清。

9. 重复步骤7和8漂洗一遍，小心弃尽上清。

注意：为减少杂质残留，应尽可能的将上清弃干净。建议弃去大部分上清后，短暂点甩离心将残留液体甩至管底，用200 μ L 吸头吸尽残留的液体，保留管底及管侧壁的白色RNA沉淀。

10. 室温晾干约1 min，加入适量约50 -100 μ L RNase-free ddH₂O溶解沉淀，Flick轻弹离心管底，让水充分接触管底和管侧壁的沉淀帮助溶解RNA（可用移液器反复吹打管底和管侧壁的沉淀帮助溶解），使RNA沉淀充分溶解。提取的RNA产物可以分装后在- 85 ~ - 65 $^{\circ}$ C长期保存，在- 30 ~ - 15 $^{\circ}$ C仅可短期保存。

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。