

# Bonazol Total RNA Extraction Regent

## Bonazol 总 RNA 提取试剂

### 货号

RE710

### 产品组成

组分	规格
Bonazol Total RNA Extraction Regent	100 mL

### 保存条件

2~8℃避光保存 12 个月。

### 产品简介

Bonazol Total RNA Extraction Regent 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。

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

- ◇ 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。

### 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。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：氯仿、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 Bonazol 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 Bonazol 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 10 cm<sup>2</sup> 培养面积生长的细胞中加入 1 mL Bonazol 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℃ 离心 2 min 收集细胞；
- 每 5×10<sup>6</sup> ~ 1×10<sup>7</sup> 个细胞加入 1 mL Bonazol 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

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

**注意：**样品经 Bonazol Reagent 匀浆后，可在-80℃保存至少一个月。

#### ● 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  $12,000\times g$   $4^{\circ}C$  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 Bonazol Regent 体积的氯仿，盖好管盖，剧烈振荡 15 s（彻底混合有利于后续的相分离），溶液呈乳浊状，室温静置 5 min；

3.  $12,000\times g$   $4^{\circ}C$  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 Bonazol 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.  $12,000\times g$   $4^{\circ}C$  离心 10 min，去上清，此时管底会出现白色胶状沉淀；

6. 加入 1 mL 75%乙醇（用 RNase-free 水配制）洗涤沉淀。 $7,500\times g$   $4^{\circ}C$  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  $55\sim 60^{\circ}C$  孵育 5~10 min，待沉淀完全溶解后将所得到的 RNA 溶液置于  $-80^{\circ}C$  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 降解？

A1：

- 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  $-80^{\circ}C$  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。

### Q2：RNA 得率较低？

A2：

- 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  $55\sim 60^{\circ}C$  孵育 5~10 min。