

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°C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

- 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 50~100 mg 样品加入 1 mL Bonazol Reagent，匀浆处理；
- c. 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

- a. 倒出培养液，用 1×PBS 清洗 1 次；
- b. 每 10 cm^2 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；
- 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 5 min。

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， $8,000 \times g$ 4°C 离心 2 min 收集细胞；
- b. 每 $5 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 个细胞加入 1 mL Bonaizol Reagent，用移液枪反复吹打直至裂解液中无明显沉淀；
- c. 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 Bonazol Reagent (推荐 0.2 mL 全血加入 0.6 mL Bonazol Reagent)，充分振荡混匀；
- b. 室温静置 5 min。

注意：样品经 Bonazol Reagent 匀浆后，可在 -80°C 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°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 Reagent 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°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 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；
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 ~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。

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°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 ~ 60°C 孵育 5 ~ 10 min。