

## Unizol Total RNA Extraction Kit

### Unizol 总 RNA 提取试剂盒

#### 产品组成

组分	规格 (100 Rxns)
NG-EP0708	
Unizol Reagent	100 mL
Buffer GRW1	60 mL
Buffer GRW2	24 mL
RNase-Free ddH <sub>2</sub> O	15 mL
RNase-Free Unizol RNA Columns	2×50 Rxns

#### 保存条件

Unizol Reagent 在 2~8°C避光保存，其余组分室温 15-30°C保存 12 个月。

#### 产品简介

Unizol Total RNA Extraction Kit 是基于 Unizol 改进后的离心柱式总 RNA 提取试剂盒，适用于次生代谢物较少的植物组织（如幼苗、幼叶等）、培养细胞、动物组织和微生物等样品。试剂盒中的 Unizol Reagent 具有极强的裂解能力，可在短时间内裂解组织和细胞样本，并有效抑制 RNase 活性，保证 RNA 的完整性；搭配独特的硅基质膜吸附技术，通过离心吸附柱可在高盐状态下高效专一的结合溶液中的 RNA，同时最大限度去除蛋白质、无机盐离子及有机杂质，提取的总 RNA 纯度高、完整性好，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

1. 适用范围广；
2. 操作简单快速，整个过程可在 1 h 内完成；

3. 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物较少的植物组织（如幼苗、幼叶等）、培养细胞、动物组织和微生物等样品的总 RNA 提取。

## 注意事项

- 1) Unizol Reagent 中含有苯酚等物质，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) RNA 在 Unizol Reagent 中时不会被 RNase 降解。但后续处理过程中应使用 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（氯仿替代物）、无水乙醇

#### 1. 样品准备

##### 1.1 动物/植物组织

- a. 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 Unizol 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 Unizol 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<sup>2</sup> 培养面积生长的细胞中加入 1 mL Unizol 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， $8,000\times g$   $4^{\circ}\text{C}$  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 Unizol 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 Unizol Reagent (推荐 0.2 mL 全血加入 0.6 mL Unizol Reagent)，充分振荡混匀。
- b. 室温静置 5 min。

**注意：样品经 Unizol Reagent 匀浆后，可在  $-80^{\circ}\text{C}$  保存至少一个月。**

1. **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  $12,000\times g(\sim 13,400\times g)$   $4^{\circ}\text{C}$  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 Unizol Reagent 体积的氯仿 (或氯仿替代物)，盖好管盖，剧烈振荡 15 s (彻底混合有利于后续的分相)，溶液呈乳浊状，室温静置 5 min。
3.  $12,000\times g(\sim 13,400\times g)$   $4^{\circ}\text{C}$  离心 10 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 Unizol Reagent 体积的 60%，建议吸取 500  $\mu\text{L}$  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 0.5 倍水相体积的无水乙醇，混匀 (此时可能会出现沉淀)。将得到溶液和沉淀一起转入 RNase-Free Unizol RNA Columns 中， $12,000\text{ rpm}(\sim 13,400\times g)$   $4^{\circ}\text{C}$  离心 30 s (若一次不能将全部溶液和混合物加入吸附柱中，请分两次转入吸附柱中离心)，弃掉收集管中的废液。
5. 向吸附柱中加入 500  $\mu\text{L}$  Buffer GRW1， $12,000\text{ rpm}(\sim 13,400\times g)$   $4^{\circ}\text{C}$  离心 30 s，弃废液，将吸附柱放入收集管中。
6. 向吸附柱中加入 500  $\mu\text{L}$  Buffer GRW2， $12,000\text{ rpm}(\sim 13,400\times g)$   $4^{\circ}\text{C}$  离心 30 s，弃废液，将吸附柱放入收集管中。
7. 重复操作步骤 6。

8. 12,000 rpm( $\sim 13,400\times g$ ) $4^{\circ}\text{C}$  离心 2 min, 弃去收集管, 将吸附柱放入新的 1.5 mL 离心管中, 开盖室温静置 2-5 min, 以彻底晾干吸附柱中残余的漂洗液。

**注意：**此步骤目的是将吸附柱中残余的漂洗液去除，漂洗液的残留，可能会影响后续的 RT 等实验

9. 向吸附膜的中间部位悬空滴加 30-100  $\mu\text{L}$  RNase-Free ddH<sub>2</sub>O, 室温放置 2 min, 12,000 rpm( $\sim 13,400\times g$ ) $4^{\circ}\text{C}$  离心 2 min, 得到 RNA 溶液, 将洗脱的 RNA 置于 $-80^{\circ}\text{C}$ 保存。(洗脱液体积小影响回收效率, 柱子最小的洗脱体积是 30  $\mu\text{L}$ 。)

## 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 $-80^{\circ}\text{C}$ 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;