

Unizol Total RNA Extraction Kit

Unizol 总 RNA 提取试剂盒

目录号

GS70040

产品组成

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

保存条件

Unizol Reagent 在 2~8℃避光保存，其余组分室温 15-30℃保存 15 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

- ◇ 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. 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 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 cm² 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×g 4℃ 离心 2 min 收集细胞。
- b. 每 5×10⁶ ~ 1×10⁷ 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℃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 ×g(~13,400×g)4℃ 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相分离），溶液呈乳浊状，室温静置 5 min。
 3. 12,000×g(~13,400×g)4℃ 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 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 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 rpm(~13,400×g)4℃ 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 μL Buffer GRW1，12,000 rpm(~13,400×g)4℃ 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 μL Buffer GRW2（使用前请检查是否加入无水乙醇），12,000 rpm(~13,400×g)4℃ 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(~13,400×g)4℃ 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 μL RNase-Free ddH₂O，室温放置 2 min，12,000 rpm(~13,400×g)4℃ 离心 2 min，得到 RNA 溶液，将洗脱的 RNA 置于-80 °C保存。（洗脱液体积过小影响回收效率，柱子最小的洗脱体积是 30 μL。）

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℃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；