安全

RL Solution 含有对皮肤腐蚀和刺激性物质(苯酚)，如接触，请尽快用大量清水冲洗。并且，提取过程用到氯仿，因此，注意在通风环境中使用。

保存

短时间（1 个月内），可室温保存。每次用完 RL Solution 后，注意旋紧盖子，避免发生氧化。长时间建议 4 °C 冷藏保存，或仅将 RL Solution 旋紧盖子后存于 4 °C 环境。

保质期: 3 年

Beibei Biotech. Co., Ltd.
www.beibeibio.com
贝贝生物科技

Cat. 082001

Total RNA Isolation Handbook

For Research Use Only

(50)

Beibei Biotech. Co., Ltd.

应用范围:

本试剂盒适用于提取动物、植物、昆虫、大型真菌等组织，细胞，细菌以及全血总 RNA。可在 30 分钟内，快捷、高效的制备高纯度总 RNA，无 DNA 残留，无需进一步进行 DNA 降解处理。

本试剂盒前期提取步骤所用容器和耗材（包括研钵、离心管、枪头等），无需无 RNA 酶处理；只有在最后收集步骤，使用无 RNase 枪头和离心管，收集 RNA。

产品成分:

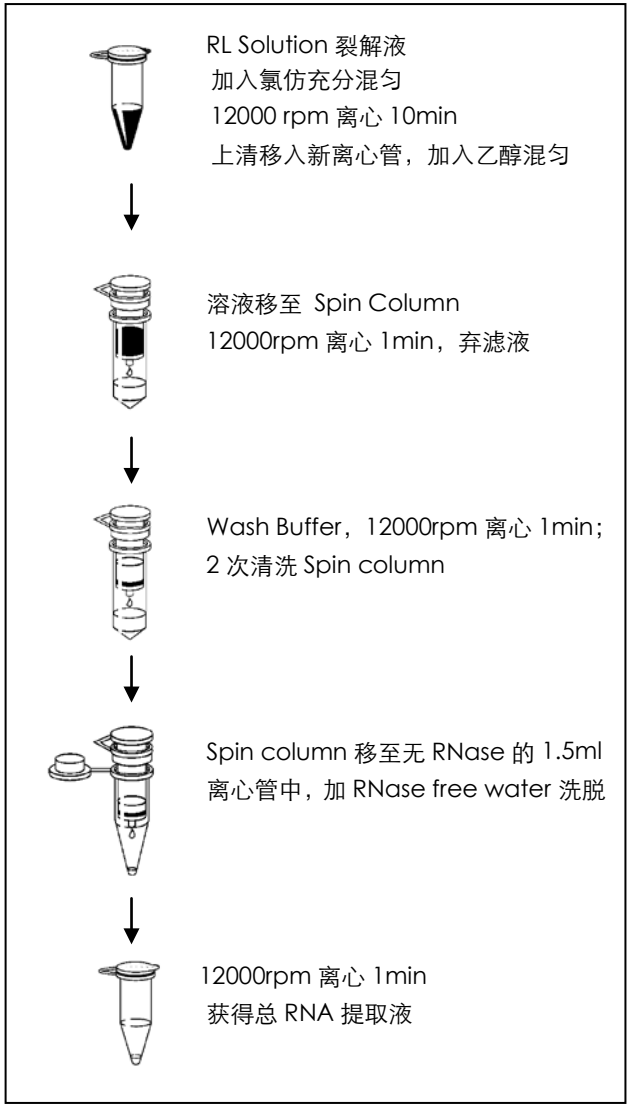
1、RL Solution （30ml）：组织、细胞裂解液
*使用后旋紧盖子，避免发生氧化，可于 4 °C 冷藏长期保存
2、Wash Buffer （20ml）：提取清洗液
** 请在使用前加入 80ml 无水乙醇，总体积达到 100ml
3、RNase Free Water（DEPC Water）

自备试剂:

1、氯仿
2、无水乙醇

提取过程中，离心机温度可保持室温或 4°C，无明显区别。

提取流程图:



方法 4：细菌总 RNA 提取

1、收集过夜培养菌液 500-1000μl，12000rpm 离心 1min，弃上清（上清倒干净），加入 500μl RL Solution，用枪头反复吹打菌体沉淀部位，直至全部溶解，进入步骤 2。
2、加入 40μl 氯仿，充分混匀，12000rpm 离心 10min。
3、小心吸取上清 200-300μl 于新的 1.5ml 离心管中（避免吸入杂质），加入等体积无水乙醇，充分混匀。
4、将混匀液吸入 Spin column 管中，12000rpm 离心 1min，弃滤液。
5、加入 600μl Wash Buffer，12000rpm 离心 1min，弃滤液。
6、重复步骤 5。
7、小心取出 Spin column（避免沾上滤出液），放入新的无 RNA 酶 1.5ml 离心管中。
8、吸入 50μl RNase free Water，室温放置 1-2min 后，12000rpm 离心 1min，收集滤液，获得总 RNA。

注意：

1、样本保存：如需保存样本，步骤 1 后，暂时或长期存放于-20 °C（-80 °C 更佳），待用时再提取，RNA 可保存完好。
2、从步骤 7 开始，请使用无 RNA 的离心管、枪头，之前可使用普通容器和耗材。

方法 1：动物、植物等组织总 RNA 提取

1、样本处理
（1）液氮研磨
取 25-50mg 动物、植物等组织，于研钵中（动物组织剪成小块，易于研磨），加入液氮，充分研磨成粉，置于 1.5ml 离心管中，加入 500μl RL Solution 充分混匀，进入步骤 2。
（2）直接研磨
取 25-50mg 组织，剪成小碎块，置于研钵或研磨器中，加入 700μl RL Solution 充分研磨(研磨不充分影响提取效果)，吸取 500μl 于 1.5ml 离心管中，进入步骤 2。
2、加入 40μl 氯仿，充分混匀，12000rpm 离心 10min。
3、小心吸取上清 200-300μl 于新的 1.5ml 离心管中（避免吸入杂质），加入等体积无水乙醇，充分混匀。
4、将混匀液吸入 Spin column 管中，12000rpm 离心 1min，弃滤液。
5、加入 600μl Wash Buffer，12000rpm 离心 1min，弃滤液。
6、重复步骤 5。
7、小心取出 Spin column（避免沾上滤出液），放入新的无 RNA 酶 1.5ml 离心管中。
8、吸入 50μl RNase free Water，室温放置 1-2min 后，12000rpm 离心 1min，收集滤液，获得总 RNA。

注意：

1、组织破碎过程，采用液氮研磨，会有最佳提取效果。
注意一定要研磨充分!!!
提取组织的量不要超过 100mg，过多提取量会导致 RNA 提取质量下降!!!
2、直接研磨法操作方便，但研磨不彻底时，会导致 RNA 一定程度降解。因此，样品处理要快速，研磨要充分。直接研磨处理时，注意样品量不多于 50mg。
3、样本保存：如需保存样本，步骤 1 后，暂时或长期存放于-20 °C（-80 °C 更佳），待用时再提取，RNA 可保存完好。
4、从步骤 7 开始，请使用无 RNA 的离心管、枪头，之前可使用普通容器和耗材。

方法 2：细胞总 RNA 提取

1、离心收集细胞($5 X 10^{2-8}$个)，弃上清（上清倒干净），加入 500μl RL Solution，用枪头反复吹打细胞，直至全部细胞溶解，吸取全部裂解液于 1.5ml 离心管中，进入步骤 2。
2、加入 40μl 氯仿，充分混匀，12000rpm 离心 10min。
3、小心吸取上清 200-300μl 于新的 1.5ml 离心管中（避免吸入杂质），加入等体积无水乙醇，充分混匀。
4、将混匀液吸入 Spin column 管中，12000rpm 离心 1min，弃滤液。
5、加入 600μl Wash Buffer，12000rpm 离心 1min，弃滤液。
6、重复步骤 5。
7、小心取出 Spin column（避免沾上滤出液），放入新的无 RNA 酶 1.5ml 离心管中。
8、吸入 50μl RNase free Water，室温放置 1-2min 后，12000rpm 离心 1min，收集滤液，获得总 RNA。

注意：

1、样本保存：如需保存样本，步骤 1 后，暂时或长期存放于-20 °C（-80 °C 更佳），待用时再提取，RNA 可保存完好。
2、从步骤 7 开始，请使用无 RNA 的离心管、枪头，之前可使用普通容器和耗材。

方法 3：血液总 RNA 提取

1、取全血 100μl 于 1.5ml 离心管中，加入 500μl RL Solution 充分混匀，进入步骤 2。
2、加入 40μl 氯仿，充分混匀，12000rpm 离心 10min。
3、小心吸取上清 200-300μl 于新的 1.5ml 离心管中（避免吸入杂质），加入等体积无水乙醇，充分混匀。
4、将混匀液吸入 Spin column 管中，12000rpm 离心 1min，弃滤液。
5、加入 600μl Wash Buffer，12000rpm 离心 1min，弃滤液。
6、重复步骤 5。
7、小心取出 Spin column（避免沾上滤出液），放入新的无 RNA 酶 1.5ml 离心管中。
8、吸入 50μl RNase free Water，室温放置 1-2min 后，12000rpm 离心 1min，收集滤液，获得总 RNA。

注意：

1、全血样本：新鲜血液（抗凝或非抗凝）提取效果最佳。收集 1 滴（约 50-100μl）新鲜血液，直接加入 500μl RL Solution，枪头吸打充分混匀，进入步骤 2；如果血滴已经凝固，则加入 500μl RL Solution，枪头反复吸打至血块彻底溶解，进入提取步骤 2。
2、血液淋巴细胞 RNA 的提取：收集血液淋巴细胞后，请按照方法 2：细胞总 RNA 提取进行提取。
3、样本保存：如需保存样本，步骤 1 后，暂时或长期存放于-20 °C（-80 °C 更佳），待用时再提取，RNA 可保存完好。
4、从步骤 7 开始，请使用无 RNA 的离心管、枪头，之前可使用普通容器和耗材。