

# Easy-RNA Extraction Agent

## 免氯仿 RNA 提取试剂

**Gecell**  
Version 11/22

目录号：7103

保存条件 4°C 保存 2 年。

### 产品组分

组分	规格
Easy-RNA Extraction Agent	100 ml

\*本产品中含有苯酚，具有毒性和腐蚀性。如果吸入体内、接触皮肤、吞食等会引起中毒、灼伤及其他身体伤害，使用时应穿戴防护物，如防护服装、手套、眼罩、面罩等。如果不小心接触到眼睛时，应立即用大量的水冲洗并前往医院治疗。

### 产品介绍

本品广泛适用于从各种动物组织、幼嫩植物、培养细胞、细菌、酵母等样品中分离纯化总 RNA 和 Small RNA。本品可在短时间内裂解细胞和组织样本，并有效抑制样本中 RNA 的降解，保持 RNA 的完整性。

与传统 Trizol 提取方法相比，本品无需添加氯仿，用法简单且全程可在常温进行，提取的总 RNA 可直接用于 Northern、点杂交、mRNA 纯化、体外翻译、RT-PCR、poly(A)+选择、RNA 酶保护分析以及构建 cDNA 文库等多种分子生物学实验。

### 注意事项

1. 自备异丙醇、75%乙醇（用 RNase-free H<sub>2</sub>O 配制）、RNase-free H<sub>2</sub>O。
2. 所有离心步骤均在室温下进行。

### 标准抽提步骤

1. 样品匀浆

**A 动物/植物组织：** 将组织在研钵中用液氮充分研磨成粉末，取 **25-50 mg** 粉末，加入 **500 μl Easy-RNA Extraction Agent** 盖好管盖，用力振荡混合均匀。

**B 单层培养细胞：**

弃去培养基，向直径 3.5 cm 的培养板/瓶中加入 **500 μl Easy-RNA Extraction Agent**（按培养板

面积而不是细胞数决定加入量, 每 10 cm<sup>2</sup> 加入 500 μl), 用移液器轻轻反复吸打裂解细胞至溶液透明, 吸取匀浆液到一个 1.5 ml 离心管中。

**C 细胞悬液:** 离心收集细胞, 弃尽上清, 每 1-5 × 10<sup>6</sup> 个细胞加入 500 μl Easy-RNA Extraction Agent, 用移液器反复吸打直至充分裂解。

**注意:** 加入 Easy-RNA Extraction Agent 前不要洗涤细胞, 以免降解 mRNA。一些酵母和细菌可能需要匀浆仪或液氮研磨破壁处理。

2. 向匀浆液中加入 2/5 体积的 RNase-free H<sub>2</sub>O (每 500 μl Easy-RNA Extraction Agent 加入 200 μl RNase-free H<sub>2</sub>O), 盖好管盖, 用力振荡 15 s 混匀, 室温孵育 5 min。

3. 室温 12,000 rpm 离心 15 min。此时溶液分成上层水相 (含 RNA) 和深色的下层沉淀 (含蛋白质、DNA、多糖等杂质), 小心吸取上层水相至一个新的离心管中。

**注意:** ①上层水相体积约占总体积的 90%, 如用 500 μl Easy-RNA Extraction Agent 提取, 上层水相约为 640 μl, 建议吸取 500 μl 进行后续操作; 针对微量的样本进行提取时, 为减少 RNA 损失, 可以全部转移上清。②当样本量较小时, 离心后可能不会出现下层沉淀, 属于正常现象, 可继续按后续步骤完成提取。

4. 加入等体积异丙醇, 上下颠倒充分混匀, 室温静置 10 min。

5. 室温 12,000 rpm 离心 10 min, 通常可见白色 RNA 沉淀, 小心弃去上清。

**注意:** 部分组织材料由于含有较多的代谢产物, 导致沉淀不能聚集而分散在离心管壁上, 此时, 请沿液面缓慢吸弃上清。

6. 加入 1 ml 75%乙醇 (用 RNase-free H<sub>2</sub>O 配制) 漂洗沉淀, 涡旋振荡 5 s 让沉淀悬浮起来并上下颠倒数次。

7. 室温 12,000 rpm 离心 3 min, 小心弃去上清。

8. 重复步骤 6 和 7 一遍。

**注意:** 弃去大部分上清后, 建议短暂离心将残留液体甩至管底, 用 200 μl 吸头吸尽残留的乙醇, 保留管底及侧壁的白色 RNA 沉淀。

9. 打开离心管盖, 室温放置晾干 (晾干 1 min 左右即可, 不要晾的过干, RNA 完全干燥后很难溶解)。根据实验需要, 加入 30-100 μl RNase-free H<sub>2</sub>O, 涡旋 3 min (或使用移液器反复吸打管底和管壁的沉淀帮助溶解), 得到的 RNA 溶液保存在 -70°C, 防止降解。