

### 【产品概述】

BEasy™ 免氯仿通用型总 RNA 提取试剂盒（柱式法）采用改进的无需氯仿的提取试剂与离心吸附柱相结合的方法，用于快速提取高质量的动物、植物组织、培养细胞、细菌样本等的总 RNA。与传统基于 TRIzol 的提取方法相比，本试剂盒无需使用氯仿抽提及异丙醇沉淀，操作简便安全且去杂能力更强，可以极大提高 RNA 纯度。单个吸附柱每次可处理 50-100 mg 组织或  $5 \times 10^6$  个细胞。提取的总 RNA 无 DNA 和蛋白质污染，可用于逆转录反应、RT-qPCR 分析、Northern Blot、Dot Blot、mRNA 分离纯化、体外翻译等。

### 【产品组分】

组分	M1TR03-01 (50 Preps)
Buffer RL	50 mL
Buffer RE	25 mL
RNA Wash Buffer*	10 mL
RNase-Free ddH <sub>2</sub> O	10 mL
Spin Column and Collection Tube	50 套
RNase-Free 1.5 mL Tube	50 支

\* 首次使用前在 RNA Wash Buffer 中加入 42 mL 无水乙醇。

### 【储存和运输】

试剂盒常温运输，室温（15-25℃）保存。产品有效期 1 年。

### 【注意事项】

- 所有离心步骤均可在室温下进行。
- 样品应避免反复冻融，否则会影响 RNA 得率和质量。
- RNA 在 Buffer RL 中时不会被 RNase 降解；后续提取处理过程应使用 RNase-Free 的吸头。
- 唾液、皮肤表面和实验环境通常含有大量 RNase。建议实验操作在超净工作台等洁净区域进行，佩戴口罩并经常更换一次性手套。

### 【自备试剂和仪器】

无水乙醇、1.5 / 2.0 mL 离心管、移液器、RNase-Free 的吸头等。



## 【操作步骤】

### 一、样本处理

- a) **组织（动物、植物、真菌）**：将新鲜组织使用液氮速冻，然后迅速转移到液氮预冷的研钵中进行研磨，直至样品完全成细粉末状。研磨期间不断加入液氮，避免液氮挥发后样品解冻。使用液氮预冷的药匙将 30~50 mg 动物组织粉末或 50-100 mg 植物组织粉末转移到 1.5 / 2.0 mL 离心管（自备）中，加入 **1 mL Buffer RL**，涡旋混匀 15 sec。**注意**：样品体积不应超过 Buffer RL 体积的十分之一。
- b) **单层贴壁培养细胞**：吸去培养液，每 10 cm<sup>2</sup> 加 **1 mL Buffer RL**，用移液器抽打数次。
- c) **细胞悬液**：离心收集细胞，弃上清，每 5×10<sup>6</sup> 个细胞加 **1 mL Buffer RL**。**注意**：加 Buffer RL 前不要洗涤细胞，以免 RNA 降解。
- d) **血液**：直接取新鲜血液，加入 **3 倍体积的 Buffer RL**（推荐 0.25 mL 血液 + 0.75 mL Buffer RL），充分振荡混匀。

### 二、总 RNA 提取

1. 将上述裂解液室温放置 5 min，完全解离核酸-蛋白复合物。
2. 【可选步骤】室温 12,000 rpm 离心 5 min，转移上清至新的 1.5 / 2.0 mL 离心管（自备）中。**注意**：如果样品含有较多蛋白、脂肪、多糖或未消化的肌肉、植物结节部位等，可通过此步离心去除。离心得到的沉淀中含有细胞外膜、多糖、高分子 DNA 等，RNA 存在于上清液中。
3. 向上清（或裂解液混合液）中加入**等体积的无水乙醇**，混匀，此时可能会出现沉淀，不影响提取结果。
4. 转移 700 uL 溶液及可能存在的沉淀至 **Spin Column**，同收集管一起 12,000 rpm 离心 1 min，弃滤液，将 Spin Column 放回收集管。此时 RNA 吸附在硅基质膜上。重复此步骤，至样品全部离心过柱。
5. 向 Spin Column 内加入 **500 uL Buffer RE**，12,000 rpm 离心 1 min，弃滤液，将吸附柱放回收集管。
6. 向 Spin Column 内加入 **500 uL RNA Wash Buffer**（确保已按要求加入指定体积的无水乙醇），12,000 rpm 离心 1 min，弃滤液，将吸附柱放回收集管。
7. 【可选步骤】重复步骤 6，再洗涤一次。
8. 将 Spin Column 放回收集管，12,000 rpm 离心 2 min，去除残留液体。**注意**：此步不能省略，否则可能会有乙醇残留，影响 RNA 纯度及下游实验。
9. 将 Spin Column 置于试剂盒提供的新的 **RNase-Free 1.5 mL Tube** 中，在柱膜中央加入 **50 ~ 100 uL RNase-Free ddH<sub>2</sub>O**，室温放置 2 min，12,000 rpm 离心 1 min，收集得到的 RNA 溶液可以直接用于下游实验或置于 -70°C 保存。【可选】将得到的 RNA 溶液重新加到 Spin Column 中，室温放置 2 min，12,000 rpm 离心 1 min，可在一定程度上提高 RNA 得率。

