

【产品概述】

BRIZOL™ Universal Total RNA Isolation Kit (Beads)试剂盒结合了博岳 BRIZOL™ Universal Total RNA Isolation Reagent 试剂通用性、高效 RNA 提取的特点和磁珠法核酸纯化简便、快速的优势，可以轻松地从各种动、植物组织及细胞等样本中分离得到高质量的总 RNA。提取过程无需 RNA 沉淀及反复离心等繁琐操作，典型提取仅需约 30 min。一般无基因组 DNA 污染，无需使用额外的 DNase I 处理。

本试剂盒可以极大简化 RNA 提取的实验流程，缩短提取时间，显著降低 RNA 降解风险。纯化得到的总 RNA 可用于逆转录、基因克隆、RT-PCR、RT-qPCR、Northern 杂交、斑点杂交、mRNA 纯化、体外翻译等下游实验。

【产品组分】

组 分	M1TR02-01 (50 preps)	M1TR02-02 (200 preps)
BRIZOL™ Universal Total RNA Isolation Reagent	50 mL	200 mL
Magnetic Beads	0.5 mL	2 mL
Wash Buffer I*	12.5 mL	50 mL
Wash Buffer II**	10 mL	40 mL
Elution Buffer	5 mL	20 mL

* 首次使用前在 Wash Buffer I 中加入 12.5 mL (M1TR02-01) 或 50 mL (M1TR02-02) 无水乙醇；

** 首次使用前在 Wash Buffer II 中加入 40 mL (M1TR02-01) 或 160 mL (M1TR02-02) 无水乙醇。

【运输与储存】

试剂盒常温运输；收到后及时将 BRIZOL™ Universal Total RNA Isolation Reagent 和 Magnetic Beads 置于 2~8°C 避光保存；产品有效期 1 年。



【注意事项】

- BRIZol™ Universal Total RNA Isolation Reagent 含有苯酚，具有一定的腐蚀性，使用时应穿戴防护用品，如实验服、手套、面罩、护目镜等。若不慎接触皮肤，请立即用大量水冲洗；如仍有不适，请尽快就医。
- 唾液、皮肤表面和实验环境通常含有大量 RNase，实验操作建议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。
- 使用 RNase-Free 的试剂、器具（匀浆器、研钵等）和耗材（移液枪头、离心管等），避免因 RNase 污染导致的 RNA 降解。
- 首次使用前应在 Wash Buffer I 和 Wash Buffer II 中加入指定体积的无水乙醇。
- 提前将 Magnetic Beads 平衡至室温，并在使用前涡旋混匀，使磁珠充分悬浮。

【自备试剂和仪器】

氯仿、异丙醇、无水乙醇、磁力架、移液器等。

【实验操作】

一、样本处理

- a) 贴壁细胞：弃除培养液，用 $1 \times \text{PBS}$ 清洗一次，每 10 cm^2 培养面积细胞加入 1 mL BRIZol™ Universal Total RNA Isolation Reagent，用细胞刮刀刮取，并用移液器吹打细胞裂解液至彻底混匀，转移到离心管中进行提取操作。
- b) 悬浮细胞： $1,000 \sim 3,000 \times g$ 离心 5 min ，弃培养液，收集细胞。每 $5 \sim 10 \times 10^6$ 个细胞加入 1 mL BRIZol™ Universal Total RNA Isolation Reagent，使用移液器反复吹打裂解细胞。
- c) 动物或植物组织：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 $20 \sim 50 \text{ mg}$ 粉末转移到离心管中，加入 1 mL BRIZol™ Universal Total RNA Isolation Reagent，待粉末融化后，使用移液器吹打至溶液澄清。

【可选】若无液氮研磨条件，可将组织剪碎后浸泡在 BRIZol™ Universal Total RNA Isolation Reagent 中，使用高效匀浆器匀浆，注意匀浆过程保持低温并尽量缩短匀浆时间。

- d) 可选步骤：若样品含有较多脂肪、蛋白、多糖、植物结节等，可在 4°C ， $12,000 \times g$ 离心 5 min ，转移上清到新的离心管中进行提取操作。



二、总 RNA 提取

1. 将上述裂解液室温放置 5 min，以完全解离核酸-蛋白复合物。
2. 向上述裂解液中加入 1/5 体积的氯仿（每 1 mL BRIZOL™ Universal Total RNA Isolation Reagent 加入 0.2 mL 氯仿），盖紧管盖，剧烈震荡 15 S 成乳浊液，室温静置 2 min。
3. 4°C，12,000 ×g 离心 15 min，样品分为三层：上层无色水相，中间相和下层红色有机相，RNA 主要在上层水相中。
4. 小心转移上层水相至新的 RNase-free 离心管中，应避免吸到中间层导致基因组污染。使用 1 mL BRIZOL™ Universal Total RNA Isolation Reagent 进行提取时，一般上层水相约为 500 μL，建议吸取 400 μL 进行下一步操作。
5. 在收集的上层水相溶液中加入等体积的异丙醇（如在 400 μL 上清中加入 400 μL 异丙醇），同时加入 10 μL 提前平衡至室温且充分涡旋悬浮的磁珠，涡旋混匀 1 min。
6. 将离心管置于磁力架上静置，待磁珠完全吸附聚集后，小心吸弃液体。
7. 加入 500 μL 的 Wash Buffer I（确保已按要求加入指定体积的无水乙醇），轻柔震荡使磁珠分散混匀后将离心管置于磁力架上，静置 2 min，待磁珠完全吸附聚集后，小心吸弃液体。
8. 加入 500 μL 的 Wash Buffer II（确保已按要求加入指定体积的无水乙醇），轻柔震荡使磁珠分散混匀后将离心管置于磁力架上，静置 2 min，待磁珠完全吸附聚集后，小心吸弃液体。
9. 重复步骤 8 一次。
10. 在超净工作台等洁净环境中敞开管盖室温晾干 5~10 min，确保残留的微量乙醇挥发完全。
11. 加入 50~100 μL Elution Buffer，反复吹打使磁珠充分悬浮；室温孵育 2~3 min。
12. 将离心管置于磁力架上静置，待磁珠完全吸附聚集后，将 RNA 溶液转移至 RNase-free 的离心管中。提取产物可以直接用于各种下游应用，或置于-80°C保存备用。

三、产物检测

1. 产物纯度可以用分光光度计进行检测，OD₂₆₀/OD₂₈₀ 比值在 1.8-2.2 之间表明 RNA 纯度较好。
2. 产物浓度可以采用分光光度计检测，RNA 浓度 (ng/μL) = OD₂₆₀ × 稀释倍数 × 40；也可用 Nanodrop 等仪器直接进行检测。
3. 产物完整性可以通过 1%琼脂糖凝胶电泳进行检测，电压 5 V/cm 电泳 25 min。若样本所属物



种对应的 RNA 主条带清晰，无明显弥散或拖尾现象，说明产物完整性好。比如小鼠等动物样本 RNA 为 28S，18S 以及 5S 三条带，且 28S 条带亮度大约是 18S 条带亮度的两倍，说明产物完整性好。

4. 也可以通过毛细管电泳等方式检测 RNA 浓度及完整性。

【常见问题及解决方案】

问 题	可能原因	解决方案
RNA 得率低	磁珠未完全吸附到管壁，在操作过程中被吸出	吸出液体时注意不要吸出磁珠
	样品裂解或研磨/匀浆不彻底	对样品进行充分研磨/匀浆，确保裂解充分
DNA 污染	样品匀浆时加入 BRIZOL™ Universal Total RNA Isolation Reagent 太少	根据样品的添加量适当增加 BRIZOL™ Universal Total RNA Isolation Reagent 用量
	加入氯仿后的离心温度过高	保证离心时温度在 2~8°C 范围
RNA 降解	组织离体后未马上进行处理或冷冻	组织离体后立即提取 RNA 或液氮速冻后保存在 -80°C
	电泳时间太长，缓冲液多次使用	提高电泳电压，清洗电泳槽并更换新鲜电泳缓冲液
	溶液、耗材等存在 RNase 污染	玻璃制品可在 150°C 烘烤 4h，塑料器皿可在 0.5M NaOH 中浸泡 10min，然后用水彻底清洗，再灭菌 溶液使用 DEPC 处理水等 RNase-Free ddH ₂ O 进行配制
	样品用量过多导致未能完全裂解	适当减少组织投入量，保证裂解完全
蛋白多糖污染	样品中蛋白、多糖含量过高	选取蛋白多糖含量少的组织部位进行取样
	样品量过多	减少组织的投入量
	未完全吸出洗涤过程中残留液体	尽量吸尽每步残留液体

【相关产品】

货 号	产 品	应 用
M5RQ05	GeniuScript™ One Step HS RT-qPCR SYBR Kit	热启动，一步法 RT-qPCR
M5RT02	GeniuScript™ 1st Strand cDNA Synthesis Kit	第一链 cDNA 合成
M3HF02	2× High-Fidelity PCR Master Mix	快速、高保真、长片段扩增
M4QS04	2× HotStart SYBR qPCR Master Mix	热启动，染料法 qPCR

