货号：BR2B101

AcuGenix™ Brizol Reagent

V02

产品概述

AcuGenix™ Brizol Reagent 是广谱型总 RNA 提取试剂。产品适用范围广泛，可以从病毒、动物组织、血液、植物材料、各种微生物及培养细胞等样品中提取总 RNA。本品能够有效抑制 RNase 活力，有效提取样本中的总 RNA，最大限度的消除了 DNA 和蛋白质等杂质的污染，RNA 样本的完整性高，可用于各种分子生物学常规实验，如 RT-PCR、Real-time RT-PCR、Northern Blot、Dot Blot、体外翻译、PolyA 筛选、RNase 保护分析、高通量测序和分子克隆等。

试剂组成

Components	BR2B101 100 mL/瓶
AcuGenix™ Brizol Reagent	100 mL

保存条件

2-8°C存储。

自备试剂

异丙醇、氯仿、75%乙醇、RNase-Free ddH_2O。

注意事项

1. 本产品仅作科研用途，不用于临床诊断。
2. AcuGenix™ Brizol Reagent 含有毒物质苯酚，避免接触皮肤或吸入。为防止溅入眼睛，请戴防护眼镜或使用透明保护屏。若皮肤接触 AcuGenix™ Brizol Reagent，请立即用清水冲洗，如仍有不适，请立即送医。
3. 请佩戴一次性手套和口罩操作，以防 RNase 污染。
4. 所有离心管,枪头及相关器具都必须无 RNase 污染。玻璃器物可 150°C烘烤 4 h 以去除 RNase,塑料器皿可在 0.5 M NaOH 中浸泡 10 min，然后用水彻底清洗，再灭菌，即可去除 RNase。
5. 如果不能及时抽提 RNA，样品用 AcuGenix™ Brizol Reagent 匀浆后，可置于-70°C。
6. 如果用于 RT-PCR 或 Real-time RT-PCR，即使有少量 DNA 基因组也会影响实验结果，后续可加入 DNaseI 进行处理。
7. 使用冻存的细胞或组织抽提总 RNA 的效果通常比新鲜的细胞或组织差一些，因为在细胞或组织冻融过程中一些细胞或组织内的 RNase 会被释放出来并剪切样品。
8. 配制溶液应使用 RNase-Free ddH_2O。

操作步骤

1. 样本处理

a.植物组织：取新鲜植物组织在液氮中充分研磨或将叶片剪碎后直接在 AcuGenix™ Brizol Reagent 中研磨，研磨要迅速。约 15 mg-50 mg 组织加入 1 mL AcuGenix™ Brizol Reagent。

b.动物组织：先将组织剪切成小块，放入玻璃匀浆器内。每 15 mg-50 mg 组织加入 1 mL AcuGenix™ Brizol Reagent 匀浆。样品体积一般不超过 AcuGenix™ Brizol Reagent 体积的 10%。对于 RNA 完整性要求比较高的情况，推荐液氮冷冻组织块，在低温下用研钵研碎组织，再加入 AcuGenix™ Brizol Reagent 进行总 RNA 抽提。

c.贴壁细胞：离心收集细胞，每 10 平方厘米细胞加入 1 mL AcuGenix™ Brizol Reagent。一般六孔板每孔加 1 mL

AcuGenix™ Brizol Reagent，12 孔板每孔加 0.5 mL AcuGenix™ Brizol Reagent。晃动 3-5 下，再用移液器吹打 2-3 下，确保全部裂解，然后吸至离心管中。细胞也可加入含有 0.1%-0.25%胰蛋白酶的 PBS 缓冲液处理细胞，当细胞脱离容器壁时，加入含有血清的培养基失活胰蛋白酶，将细胞溶液转移至 RNase-free 的离心管中，于 3000 rpm 4°C离心 5 min，收集细胞沉淀，仔细吸除所有上清。

注意：收集细胞时一定要将细胞培养液去除干净，否则会导致裂解不完全，造成 RNA 的产量降低。

d.悬浮细胞：离心收集细胞，5×10^6-1×10^7 个/mL 动植物细胞、酵母或细菌加入 1 mL AcuGenix™ Brizol Reagent。用移液器吹打，确保全部裂解。某些酵母和细菌若裂解不充分，可用匀浆器匀浆，确保全部裂解。

注意：加入 AcuGenix™ Brizol Reagent 前不要洗涤细胞，以免降解 mRNA。

e.血液与病毒液处理：直接取新鲜的血液或病毒液，加入 3 倍体积 AcuGenix™ Brizol Reagent。（推荐 0.2 mL 全血或病毒液加入 0.6 mL AcuGenix™ Brizol Reagent）。

2. 根据不同样本加入适当体积的 AcuGenix™ Brizol Reagent 后，室温放置 5 min，使样品充分裂解。

3. 可选步骤：于 4°C 12,000 rpm 离心 10 min，取上清。

注意：如果样品中含有较多蛋白、脂肪、多糖或肌肉、植物结节部分等，可离心去除。离心得到的沉淀中包括细胞外膜、多糖、高分子量 DNA，上清中含有 RNA。处理脂肪组织样品时，上层是大量油脂，应除去。取澄清的匀浆溶液进行下一步操作。

4. 每毫升 AcuGenix™ Brizol Reagent 加入 0.2 mL 氯仿，移液器吹打混匀，室温放置 2-3 min。

注意：旋涡混匀或手动快速颠倒混匀 15 s。

5. 于 12,000 rpm 4°C离心 15 min，样品会分成三层：紫红色的有机相，中间层和上层无色的水相，吸取含总 RNA 的上层无色水相至一新的离心管中。

6. 在得到的水相中加入等体积的异丙醇，颠倒数次混匀，室温沉淀 10 min。如果希望提取 microRNA 等小 RNA，推荐-70°C 沉淀过夜。

7. 于 12,000 rpm 4°C离心 10 min，在管底可见 RNA 沉淀，弃上清。

8. 加入 1 mL 75%乙醇（RNase-Free ddH_2O 配制），颠倒混匀。

9.于 12,000 rpm 4°C离心 5 min，弃上清，注意不要倒出沉淀，剩余的少量液体短暂离心，然后用移液器吸出。

10. 室温放置晾干 2-3 min，根据实验需要加入 30-100 µL RNase-Free ddH_2O，反复吹打、混匀，充分溶解 RNA，-70°C 冻存。（切勿让 RNA 过分干燥，否则将极难溶解，且测出的 A_{260}/A_{280} 值会低于 1.6）。

FAQ

1. 低得率：a.样品裂解或匀浆处理不彻底。b.得到的 RNA 沉淀未完全溶解。

2. A_{260}/A_{280}<1.65：a.检测吸光度时，RNA 样品不是溶于 TE，而是溶于水。b.样品匀浆时加的试剂量太少。c.匀浆后样品未在室温放置 5 min。d.水相中混有有机相。e.最后得到的 RNA 沉淀未完全溶解。

3. RNA 降解：a.组织取出后没有马上处理或冷冻。b.样品或提取的 RNA 沉淀未在-70°C保存。c.细胞在胰蛋白酶处理时被破坏。

d. 溶液或离心管未经 RNase 去除处理。

4. DNA 污染：a.样品匀浆时加的试剂体积太少。b.样品中含有组织溶剂（乙醇，DMSO），强缓冲液或碱性溶液。

5. 蛋白和多糖污染：a.样品中蛋白、多糖含量高。b.样品量太大，可加大试剂用量。c.水相中混有有机相。