



**GenZOL Plus Total RNA Kit**  
**GenZOL Plus 高纯总 RNA 快速提取试剂盒 (免氯仿)**

货号: GxRNA008

❖ **试剂盒组成、储存、稳定性:**

试剂盒组成	50 次	100 次
GenZol Plus Reagent (4℃避光)	25 ml	50 ml
去蛋白液 PE	16 ml	32 ml
	第一次使用前按标签说明加指定量乙醇	
漂洗液 RW	10 ml	25 ml
	第一次使用前按标签说明加指定量乙醇	
RNase-free H <sub>2</sub> O	10 ml	10 ml
RNase-free 吸附柱 RA	50 个	100 个
收集管 (2ml)	50 个	100 个

本试剂盒在室温储存 12 个月不影响使用效果。

**储存事项:**

1. 因此运输和储存均在室温下 (15℃-25℃) 进行。GenZol Plus Reagent 可以常温运输, 收到后 4℃ 避光可长期保存, 常温保存 3 个月也不影响使用质量。
2. 避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、PH 值变化, 各溶液使用后应及时盖紧盖子。

❖ **产品介绍:**

GenZol Plus 是传统 Trizol 的免氯仿升级版, 广泛适用于从各类动物组织、植物材料、培养细胞、细菌等样品中提取 Total RNA。与传统 Trizol 提取方法

相比，本产品不需要使用氯仿进行分层，操作更简单，且全程可在常温进行，同时 GenZol Plus 去除 DNA 能力比传统 Trizol 强大，得到的 RNA 无 DNA 污染，不需要 DNA 酶消化就可以直接用于下游实验。本产品配套了离心柱技术，经过多次漂洗去除各种杂质，简化了实验操作，并最大限度得到最纯净的 RNA。

#### ❖ **产品特点：**

1. 离心吸附柱内硅基质膜全部采用特制吸附膜，柱与柱之间吸附量差异极小，可重复性好。
2. 结合了异硫氰酸胍/酚一步法试剂稳定性好，纯度高和离心柱方便快捷的优点，不需要异丙醇沉淀和乙醇洗涤过程，RNA 可以直接从离心柱上洗脱避免了过度干燥不易溶解问题。
3. 独有的 GenZol Plus Reagent 配方，可以有效的消除基因组 DNA 残留。
4. 多次漂洗去蛋白过程，提取 RNA 纯度更高。
5. 有效的去除了 5S 在总 RNA 中含量，提高了纯度。

#### ❖ **注意事项**

1. **第一次使用前请先在漂洗液 RW 瓶和去蛋白液 PE 瓶中加入指定量乙醇，加入后请及时打钩标记已加入乙醇，以免多次加入！**
2. 本试剂盒抑制 RNA 酶效果极佳，所有离心步骤如未加说明，均可在常温进行。
3. GenZol Plus Reagent 和去蛋白液 PE 中含有刺激性有害化合物，操作时要戴乳胶手套，**避免沾染皮肤、眼睛和衣服。若沾染皮肤、眼睛时，要用大量清水或者生理盐水冲洗。**
4. 常规的琼脂糖凝胶电泳和变性胶电泳均可以用来分析 RNA 的质量。好的 RNA 产物在电泳后应该可以看到明显的二条优势核糖体 RNA 带，分别为 ~2Kb (28S)，~1Kb (18S)，条带亮度比值约为 2: 1。有时候也可以看到 ~0.1kb 和 0.3Kb(5S, tRNA)带。但有时候根据不同的物种如某些植物组织可以看到 4, 5 条带也属于正常现象，如果 RNA 未成熟的前体或者不均一核 RNA、小核 RNA 提取出来也可能看到介于 7Kb 和 15Kb 之间的不连续的高分子量条带。
5. 加入 GenZol Plus Reagent 均浆后，加水离心前样品可在 -60°C 至 -70°C 保存一个月以上。

6. 若提取细菌 RNA，推荐 GenXion 系列细菌 RNA 提取试剂盒

❖ **操作步骤：（实验前请先阅读注意事项）**

提示：第一次用前请先在漂洗液 RW 瓶和去蛋白液 PE 瓶中加入指定量无水乙醇！

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植物组织剪碎后直接在 GenZol Plus 中迅速研磨，每 25 - 50 mg 组织加入 0.5 ml GenZol Plus，混匀。

b. 动物组织：取新鲜或 -70°C 冻存动物组织尽量剪碎，每 15 - 50 mg 组织加入 0.5 ml GenZol Plus，匀浆仪进行匀浆处理。或在液氮中研磨后加入 0.5 ml GenZol Plus 混匀。

c. 单层培养细胞：尽量去除干净残留培养液后直接往直径 3.5 cm 的培养板中加入 0.5 ml GenZol Plus 覆盖并反复吹打裂解细胞。依据培养板的面积而不是依据细胞的数量来决定所需的 GenZol Plus 量（每 10 cm<sup>2</sup> 加 0.5 ml）。当 GenZol Plus 量不足时可导致抽提的 RNA 中污染有 DNA。

▲注意：贴壁培养细胞往往不能完全从培养瓶（皿）脱落，这并不意味着裂解不完全，此时细胞膜实际已经完全破裂开，并已释放出全部 RNA，继续做即可。

d. 细胞悬液：离心收集细胞。在 GenZol Plus 试剂中用移液管反复吹打来裂解细胞。每  $1-5 \times 10^6$  的动物细胞，植物细胞细菌加 0.5 ml GenZol Plus。在加入 GenZol Plus 前应避免洗涤细胞，因为那样会增加 mRNA 降解的可能性。

e. 液体样本：每 200  $\mu$ l（低于 200  $\mu$ l 时，可用 RNase-free H<sub>2</sub>O 补足）血浆、血清等液体样本，加入 0.5 ml GenZol Plus 后振荡混匀。

2、向上述裂解液中加入 2/5 体积的 RNase-free H<sub>2</sub>O（每 500  $\mu$ l GenZol Plus 加 200  $\mu$ l 水），剧烈振荡混匀，室温静置 5 min。

▲当处理样本量较大 50 mg 左右时，可延长室温静置时间到 10 - 15 min。

3. 室温 12,000 rpm 离心 15 min。
4. 离心后溶液分成上层水相(含 RNA)和下层沉淀(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。
  - ▲上层水相约占总体积的 90%，如用 500  $\mu$ l GenZol Plus 进行提取，上层水相约为 630  $\mu$ l，建议吸取 500  $\mu$ l；提取微量样本时，为减少 RNA 损失，可以全部转移上清。
  - ▲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。
5. 加入水相体积一半也就是 0.5 倍体积的无水乙醇，混匀（此时可能会出现沉淀）。得到的溶液和可能沉淀转入吸附柱 RA 中（吸附柱套在收集管内，12,000rpm 离心 30 sec，弃废液，将吸附柱重新套回收集管）。
  - ▲吸附柱容积为 750  $\mu$ l，若混合液超过该体积请分多次进行上柱。请弃废液后将吸附柱放回收集管，继续转入剩余混合物到吸附柱 RA 中离心。
6. 加 500  $\mu$ l 去蛋白液 PE（**请先检查是否已加入无水乙醇!**），12,000 rpm 离心 30 sec，弃废液。
7. 加入 500  $\mu$ l 漂洗液 RW（**请先检查是否已加入无水乙醇!**），12,000 rpm 离心 30 sec，弃废液。
8. 重复步骤 8 一次。
9. 将吸附柱 RA 放回空收集管中，12,000 rpm 离心 2 min，尽量除去漂洗液，以免漂洗液中残留乙醇抑制下游反应。
10. 将吸附柱 RA 转移至新的 1.5 ml 离心管中，向吸附柱膜中央悬空滴加 40-60  $\mu$ l 的 RNase-free ddH<sub>2</sub>O，静置 1 min，12,000 rpm 离心 1 min。。
  - ▲洗脱体积建议不少于 30  $\mu$ l，体积过小会影响核酸回收效率。
  - ▲以下步骤都可以帮助提高 RNA 产物浓度：  
RNase-free ddH<sub>2</sub>O 于 90°C 预热；  
将第一次洗脱液重新加入吸附柱进行洗脱。

