

**Monzol™**  
**Reagent Pro**  
MI20201S

**使用说明书**  
Version 2.0

## 【产品名称】

英文名称: Monzol™ Reagent Pro

中文名称: 升级款 RNA 抽提试剂

## 【包装规格】

100 ml/ 盒

## 【产品介绍】

Monzol™ Reagent Pro 试剂广泛适用于从各种动物组织和体液、植物、培养细胞、细菌、酵母、病毒样品中分离纯化总 RNA、miRNA 和大片段 RNA。在匀质化或溶解的样品中, Monzol™ Reagent Pro 试剂可保持 RNA 的完整性, 同时能破坏细胞及溶解细胞成分。

与传统 Trizol 提取方法相比, Monzol™ Reagent Pro 无需添加氯仿, 用法简单且全程可在常温进行, 提取的总 RNA 可用于分子克隆、体外翻译、Northern blot 分析、斑点杂交、poly (A) + 选择、RNA 酶保护分析等各种分子生物学实验。

**【适用范围】** 动物组织和体液、植物、培养细胞、细菌、酵母、病毒等样品的总 RNA、miRNA 和大片段 RNA 提取。

## 【主要组成成分】

组分 / 规格	MI20201S
Monzol™ Reagent Pro	100 ml
说明书	1 份

## 【储存条件及有效期】

产品储存于室温 (15~25°C), 有效期为一年; 储存于 2~8°C, 可延长产品的有效期至三年以上。室温超过 25°C 时, 试剂需放置于 2~8°C。

## 【自备材料】

RNase-free 水、异丙醇、75% 乙醇 (用 RNase-free 水配制);

可能需要 PBS 溶液、70% 异丙醇 (用 RNase-free 水配制)。

## 【实验流程】

### 一、使用前准备

1. Monzol™ Reagent Pro 试剂的浊点在 10°C 左右, 2~8°C 储存的试剂会变浑浊并分相。**使用前必须恢复至室温 (可水浴至 20°C), 并混匀形成透明均一的溶液后再使用。**
2. 离心机如果有制冷功能, 请将温度设置到 25°C。
3. 操作过程中请佩戴手套、口罩和护目镜, 使用 RNase-free 的实验器具等。

### 二、样本前处理

#### 1. 动物或植物组织 / 植物细胞 / 酵母 / 细菌

在研钵中用液氮将约 100~200 mg 组织研磨至粉末状, 用液氮预冷过的 1.5 ml 离心管称取 25~100 mg 组织, 加入 500  $\mu$ l Monzol™ Reagent Pro 试剂 (**尽量在组织粉末尚未融化前加入**), 盖上管盖, 用力摇晃混合均匀, 进入总 RNA 提取步骤 1 或 miRNA / 大片段 RNA 分开提取步骤 1。

#### 2. 贴壁培养的细胞

每 10 cm<sup>2</sup> 培养细胞中加入 500  $\mu$ l Monzol™ Reagent Pro 试剂 (比如直径为 3.5 cm 的细胞培养皿, 弃尽培养基后, 直接加入 500  $\mu$ l Monzol™ Reagent Pro 试剂), 勿弃吸头, 直接用吸头吹打细胞数次使细胞溶解, 吸取匀浆液到一个 1.5 ml 离心管中, 进入总 RNA 提取步骤 1 或 miRNA / 大片段 RNA 分开提取步骤 1。

#### 3. 悬浮培养的细胞

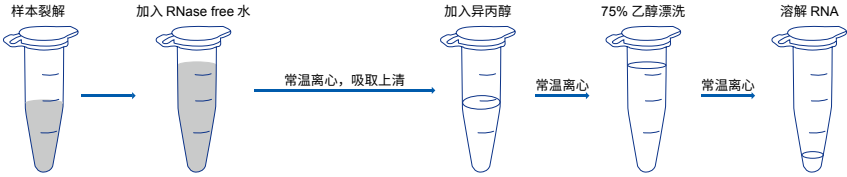
用 1.5 ml 离心管离心收集 5~10 $\times$ 10<sup>6</sup> 的细胞, 加 200  $\mu$ l PBS 溶液, 旋涡振荡直至细胞全部悬浮, 加入 500  $\mu$ l Monzol™ Reagent Pro 试剂, 勿弃吸头, 直接用吸头吹打细胞数次使细胞溶解, 进入总 RNA 提取步骤 2 或 miRNA / 大片段 RNA 分开提取步骤 2。

#### 4. 液体样本

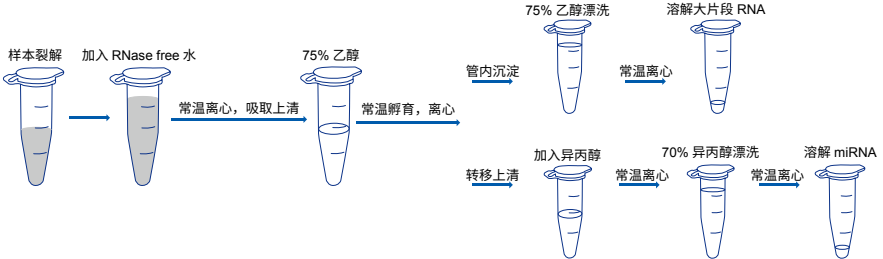
每 200  $\mu$ l (低于 200  $\mu$ l 时, 可用 RNase-free 水补足) 血液、血浆等液体样本, 加入 500  $\mu$ l Monzol™ Reagent Pro 试剂, 盖上管盖, 用力摇晃混合均匀, 进入总 RNA 提取步骤 2 或 miRNA / 大片段 RNA 分开提取步骤 2。

### 三、提取流程

#### 总 RNA 提取示意图



#### 大片段 RNA 和 miRNA 提取示意图



#### 1) 总 RNA 提取步骤:

可选步骤: 如果样本中脂质含量较高, 可将样品于 13000 rpm (11,750 g) 离心 5 分钟, 上层出现脂肪层, 吸取下层澄清的溶液到一个新的 1.5 ml 离心管中, 进入下一步操作。

1. 加入 200  $\mu$ l RNase-free 水, 用力摇晃 15 秒。
2. 13,000 rpm (11,750 g) 离心 15 分钟。
3. 离心后, 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 500  $\mu$ l 上清液到一个新的 RNase-free 1.5 ml 离心管中。
4. 加入 500  $\mu$ l 异丙醇, 混合均匀, 13,000 rpm (11,750 g) 离心 10 分钟, 小心弃上清。
5. 加入 1 ml 75% 乙醇, 温和地翻转离心管 4~6 次, 11,000 rpm (8413 g) 离心 5 分钟, 弃上清。  
\* 如果观察到 RNA 沉淀较多, 可重复步骤 5 一次, 以减少 RNA 中盐分的残留。
6. 弃去大部分上清后, 短暂低速离心将残留液体甩至管底, 用 200  $\mu$ l 吸头吸尽残留的乙醇, 保留管底及管壁的白色 RNA 沉淀, 无须干燥 RNA。  
\* 注意: 从某些样本中提取 RNA 时, RNA 并非聚集在离心管管底, 而是以均匀的薄雾状沉淀吸附在管壁上。请注意仔细观察并在步骤 7 操作时特别留意将 RNase-free 水加到管壁的相应位置上溶解 RNA。
7. 加入 50~100  $\mu$ l RNase-free 水溶解 RNA, 并将 RNA 储存于 -70 $^{\circ}$ C 以下备用。

#### 2) miRNA / 大片段 RNA 分开提取步骤:

1. 加入 200  $\mu$ l RNase-free 水, 用力摇晃 15 秒。
2. 13,000 rpm (11,750 g) 离心 15 分钟。
3. 离心后, 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 500  $\mu$ l 上清液到一个新的 RNase-free 1.5 ml 离心管中。
4. 加入 200  $\mu$ l 75% 乙醇, 混合均匀, 室温孵育 10 分钟, 13,000 rpm (11,750 g) 离心 8 分钟。此时大片段 RNA 将在管底形成沉淀, 保留沉淀进入步骤 6 的操作。将含有 miRNA 的上清液转移到一个新的 RNase-free 1.5 ml 离心管中。
5. 加入 500  $\mu$ l 异丙醇, 混合均匀, 在 4 $^{\circ}$ C 孵育 30 分钟, 13,000 rpm (11,750 g) 离心 15 分钟, 弃上清。此时管底将形成 miRNA 沉淀。
6. 大片段 RNA 沉淀 (步骤 4) 中加入 1 ml 75% 乙醇, 向 miRNA 沉淀 (步骤 5) 中加入 1 ml 70% 异丙醇, 分别混合均匀, 11,000 rpm (8413 g) 离心 3 分钟, 弃上清。  
\* 如果观察到 RNA 沉淀较多, 可重复步骤 6 一次, 以减少 RNA 中盐分的残留。
7. 弃去大部分上清后, 短暂低速离心将残留液体甩至管底, 用 200  $\mu$ l 吸头吸尽残留的乙醇或异丙醇, 保留管底及管壁的白色 RNA 沉淀, 无须干燥 RNA。

8. 向大片段 RNA 沉淀中加入 50~100  $\mu$ l RNase-free 水溶解大片段 RNA, 向 miRNA 沉淀中加入 10~50  $\mu$ l RNase-free 水溶解 miRNA, 并将 RNA 储存于 -70°C 以下备用。

**【常见问题与解决方案】**

问题描述	可能原因	解决方法
RNA 降解	陈旧检材	尽量使用新鲜的、未反复冻融的样本。
	提取 RNA 储存不当	提取的 RNA 样品需要妥善保存, 建议取少量进行检测, 其余样品分装于 -85 ~ -65°C 冰箱保存。
	提取过程出现降解	确保提取 RNA 的试剂和器具没有被 RNase 污染, 所有离心管、枪头及相关溶液都必须无 RNase 污染, 耐高温器物可于 150°C 烘烤 4 ~ 6 h 以去除 RNase, 其它器物可用 0.1% 的 DEPC 水浸泡过夜。
	电泳过程出现降解	进行电泳检测时可以提高电压并缩短跑胶时间, 同时对电泳缓冲液进行冰浴降温, 防止跑胶过程中 RNA 发生降解。
DNA 污染	样本投入过多	减少样本用量或将 Monzol™ Reagent Pro 试剂、异丙醇、75% 乙醇等试剂的用量按比例增加。
	操作过程带入	注意裂解后尽量吸取上清, 如需要彻底除去 DNA, 请用不含 RNA 酶的 DNase I 消化残留的 DNA。
OD260/OD280 或 OD260/OD230 偏低	样本投入过多	适当增加 Monzol™ Reagent Pro 用量或减少样本用量。
	乙醇未去除干净	适当延长 RNA 晾干时间。
	样本含较多的多糖、蛋白	增加洗涤次数; 取上清时避免吸收到沉淀。
提取得率低	样本含量低	增加样本用量。
	样本未充分破碎	延长破碎时间。
	匀浆不彻底	延长匀浆时间。
	RNA 未完全溶解	增加 RNase-free 水或延长溶解时间。
RNA 在下游实验中表现不佳	反转录 RNA 用量过多	20 $\mu$ l 反转录反应体系中加入 100~1000 ng RNA 作为模板比较适宜。
	DNA-RNA 复合体	反转录时建议减少随机引物的用量或用特异性引物进行反转录, 或者在反转录后添加 RNase H 进行处理, 去除 DNA-RNA 复合体。

☎ 400-928-3698

莫纳生物科技有限公司  
Monad Biotech Co., Ltd.

E-mail: support@monadbiotech.com  
www.monadbiotech.com

