

通用型总 RNA 抽提试剂

Universal Total RNA Isolation Reagent



产品货号: U7431

产品规格: 100 mL

储存条件: 避光保存于室温, 有效期见外包装

产品介绍

通用型总 RNA 抽提试剂是一款类似于 TRIzol 的一步法分离总 RNA 的试剂, 适用于从细胞、组织、细菌及酵母等样本中快速分离总 RNA。通用型总 RNA 抽提试剂有效裂解样本并抑制 RNase 活性, 加入氯仿萃取分层, 分为上层水相(含 RNA), 中间层和下层有机相, 异丙醇和 75%乙醇沉淀和洗涤得到纯度高的总 RNA, 整个实验过程操作简单, 提取过程大约 1 h。抽提得到的总 RNA 可用于 Northern Blot、PolyA RNA 富集、体外翻译、RNase 保护分析、反转录等下游实验。本品含有苯酚, 如不慎接触皮肤, 应立即用大量流水冲洗。

使用方法

注: 请确保您所使用的离心管、移液器吸头以及其它器皿未被 RNase 污染。金属和玻璃制品可在 200°C 烘烤 2 h 以上。塑料制品和水可用 0.01% 的 DEPC 水浸泡过夜, 高压灭菌。所有溶液应使用 DEPC 处理后的水配制。

实验材料 (自备)

- 异丙醇
- 无水乙醇
- ddH₂O (无RNase或0.01%的DEPC处理)
- 氯仿
- 0.01%的DEPC处理过并高温高压灭菌或者无RNase的枪头、1.5 mL、2 mL EP管以及其他操作器皿

实验步骤

1. 不同样本裂解匀浆

组织样本:

- 1) 将 50-100 mg 低温冻存的组织或新鲜组织用液氮在研钵中速冻后, 碾磨成极细的粉末, 期间不断添加液氮, 保持组织样品处于冷冻状态。将粉末转移至 1 mL 总 RNA 抽提试剂中 (样品体积不应超过总 RNA 抽提试剂体积的 10%)。
- 2) 使用的组织为容易匀浆的样本, 如大脑、肝脏等, 取 50-100 mg 新鲜样本加入 1 mL 总 RNA 抽提试剂, 直接用玻璃匀浆器匀浆至无明显组织块。

贴壁细胞:

- 1) 贴壁培养的细胞吸去培养板中的培养基, 按每 10 cm² (相当于一个 3.5 cm 直径的培养板或六孔板的一个孔的面积) 培养面积直接加入 1 mL 总 RNA 抽提试剂。



UElandy Inc.

Tel: 0512-88965152

Web: www.uelandy.com

- 2) 晃动培养板，使总RNA抽提试剂反复流过培养细胞的表面，待所有贴壁的细胞裂解后，将裂解液转移到一个1.5 mL的离心管内。

悬浮细胞：

- 1) 悬浮培养的细胞离心收集细胞（无需洗涤细胞，洗涤细胞的过程极有可能会使RNA降解），按每 $5-10 \times 10^6$ 个动物、植物、酵母细胞或 1×10^7 个细菌细胞加入1 mL总RNA抽提试剂，反复吹打，使细胞分散裂解。
- 2) 一些酵母细胞或细菌细胞可能需要用匀浆仪处理或者液氮研磨处理。

注：(a) 样本过多可能会导致裂解不充分，导致RNA浓度和纯度降低。(b) 植物组织样本建议液氮研磨。

2. 裂解后的匀浆液于室温放置5 min，使核酸和蛋白质复合体完全分离。
 3. （可选）如样品中含有较多组织碎片或多糖等不溶物质（常见于抽提植物组织RNA时），可于4°C，12000×g离心10 min，取上清液进行下一步操作。
 4. 按每使用1 mL总RNA抽提试剂加入0.2 mL氯仿，剧烈震荡混匀15 s，室温放置3-5 min。
 5. 于4°C，12000×g离心15 min。样品将分为三层：下层为红色有机相，上层为无色水相，中间层为白色的DNA和蛋白质。
 6. 吸取上层水相，转移到一个干净的离心管中（请避免吸取中间层）。加入等体积异丙醇，上下颠倒混匀，室温放置10 min沉淀RNA。小分子RNA（如microRNA等），在异丙醇沉淀过程中会大量丢失，因此如希望回收microRNA等小分子RNA，可改用2.5倍体积乙醇，于-20°C沉淀30 min以上。
- 注：若同时提取样本DNA和（或）蛋白质，则保留中间层和下层有机相于4°C冰箱。若只提取样本RNA，则可丢弃中间层和下层有机相。
7. 于4°C，12000×g离心10 min，收集沉淀。离心后，管底和管侧可见白色或半透明状RNA沉淀。弃上清。
 8. 加入1 mL 75%乙醇（无RNase水配置），轻弹管壁，RNA沉淀飘起后，上下颠倒洗涤RNA。于4°C，12000×g离心10 min，弃上清。
 9. 将离心管放回离心机轻甩几秒，使残留在管壁的乙醇溶液集中到管底，用移液器吸头小心吸去残余的乙醇溶液。
 10. 打开离心管管盖，室温晾干RNA沉淀。一般3-5 min即可。加入适量无RNase的水溶解沉淀（可在55-60°C的水浴中孵育10-15 min促进RNA的溶解）。

注意事项

1. 提取RNA前，需要将工作台面用75%乙醇擦拭干净，操作期间必须佩戴手套和口罩，防止RNase污染。
2. 因试剂中含有苯酚等有毒物质，操作时注意佩戴口罩，手套，实验服。
3. RNA易降解，操作前请按照说明书自备器材。
4. 建议样本尽量使用新鲜样本或者低温冻存的样本。

