

总 RNA 提取试剂

Total RNA Isolation Reagent

本产品常温运输；避光保存于4~25°C，保质期 24个月。

货号规格

货号	规格
YY101	100 mL
YY101L	100 mL×5

产品特点

- 色彩鲜艳** – 便于区分水相和有机相的分界面,方便吸取上清;
- 高性价比** – 产品质量丝毫不逊色于进口同类产品,而价格仅为其一半左右。

产品简介

本产品适用于从细胞和组织中快速分离 RNA/DNA/ 蛋白质。整个实验操作简单省时,所提取的 RNA 纯度高,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。

使用说明

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 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。

分离 RNA

1. 裂解匀浆:

A. 组织样品

将组织用液氮在研钵中速冻后,碾磨成极细的粉末,期间应不断添加液氮,保持组织样品处于冷冻状态。按 50~100 mg 组织加入 1 mL 总 RNA 提取试剂(样品体积不应超过试剂体积的 10%),此时总 RNA 提取试剂由于低温会凝固。继续研磨,尽量将凝固的试剂在其融化前磨成粉末,以使总 RNA 提取试剂和组织粉末尽快混合充分。几分钟后,随着研钵温度的上升,总 RNA 提取试剂会慢慢融化。充分研磨匀浆样品后,将裂解液转移到一个新的 1.5 mL 离心管内。若使用的组织为容易匀浆的样本,如大脑、肝脏等,可直接用玻璃匀浆器匀浆。

B. 贴壁培养的细胞

吸去培养板中的培养基,按每 10cm²(相当于一个 3.5 cm 直径的培养皿或 6 孔板的一个孔的面积)培养面积直接加入 1 mL 总 RNA 提取试剂。晃动培养板,使总 RNA 提取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新的 1.5 mL 的离心管内。

C. 悬浮培养的细胞

离心收集细胞(无需洗涤细胞,洗涤过程极有可能使 RNA 降解),按每 5~10×10⁶ 个动物、植物、酵母细胞或 1×10⁷ 个细菌细胞加入 1 mL 总 RNA 提取试剂,反复吹打,使细胞分散裂解。一些酵母细胞或细菌细胞可能需要用匀浆仪处理。



雅酶®

本产品仅供科研使用,请勿用于临床诊断及其它用途
技术支持: 400-058-8030 info@epizyme.cn

- 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;
- 可选:** 若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 12,000×g 离心 10 min,取上清液进行下一步操作;
- 按每使用 1 mL 总 RNA 提取试剂加入 0.2 mL 氯仿,剧烈震荡混匀 15 s,室温放置 3~5 min;
- 于 4°C 12,000×g 离心 15 min。样品将分为三层:下层为绿色有机相,上层为无色水相,中间层为白色的 DNA 和蛋白质;
- 吸取上层水相,转移到一个干净的离心管中。加入等体积异丙醇,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。如需同时纯化 DNA 和蛋白质,请保留有机相和中间层;
- 于 4°C 12,000×g 离心 10 min,收集沉淀。离心后,管底和管侧壁可见白色或半透明状 RNA 沉淀。弃上清;
- 用 1 mL 75% 乙醇洗涤 RNA 沉淀。于 4°C 12,000×g 离心 10 min,弃上清;
- 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;
- 打开离心管盖,室温晾干 RNA 沉淀。一般 3~5 min 即可。加入适量无 RNase 水溶解沉淀。

分离 DNA

- 在上述 **分离 RNA** 第 6 步的有机相和中间层中,按每使用 1 mL 总 RNA 提取试剂加入 0.3 mL 无水乙醇,混匀,室温放置 3 min,于 4°C 12,000×g 离心 5 min;
- 将上清转移到一个新的离心管内,以备后续分离蛋白。DNA 沉淀用含 10% 乙醇的 0.1M 柠檬酸钠溶液充分洗涤。按每使用 1 mL 总 RNA 提取试剂加入 1 mL 洗涤液,室温放置 30 min,于 4°C 12,000×g 离心 5 min,弃上清,重复一次;
- 用 75% 乙醇洗涤沉淀。按每使用 1 mL 总 RNA 提取试剂加入 1.5 mL 75% 乙醇,室温放置 10~20 min,期间不时颠倒混匀。于 4°C 12,000×g 离心 5 min,弃上清;
- 室温晾干 DNA 沉淀。用 8 mM 的 NaOH 溶液溶解 DNA;
- 将 DNA 溶液 pH 调整至 7.5。按每 1 mL 8 mM NaOH 溶液加入 160 μL 0.1 M 的 HEPES 溶液。

分离蛋白质

- 取沉淀 DNA 后的上清,按每使用 1 mL 总 RNA 提取试剂加入 1.5 mL 异丙醇,室温放置 10 min,于 4°C 12,000×g 离心 5 min,弃上清;
- 用含 0.3 M 盐酸胍的 95% 乙醇洗涤蛋白质沉淀。按每使用 1 mL 总 RNA 提取试剂加入 2 mL 洗涤液,室温放置 20 min,于 4°C 7,500×g 离心 5 min,弃上清。重复两次后,用 2 mL 无水乙醇再洗一次;
- 晾干沉淀,用 1% SDS 溶液溶解蛋白沉淀,必要时可于 50°C 加热助溶。离心,弃不溶物。上清即可用于 Western Blot 分析。

注意事项

- 本品含有苯酚,如不慎接触皮肤,应立即用大量流水冲洗;
- 为了您的安全和健康,请穿实验服并戴一次性手套操作;
- 本产品仅限科研使用。

