

RNA 总提取试剂

目录号

MG-TQ-01

产品组成

组分	规格
RNA 总提取试剂	100mL

保存条件

2~8℃避光保存 12 个月。

产品简介

RNA 总提取试剂是基于异硫氰酸胍/酚的广谱型总 RNA 提取试剂,具有极强的裂解能力,可在短时间内裂解细胞和组织样本,并有效抑制 RNase 活性,保证 RNA 的完整性。本产品适用于次生代谢较少的植物组织(如幼苗、幼叶等)、培养细胞、动物组织、微生物。提取过程可在 1h 内完成,提取的总 RNA 纯度高、完整性好,最大限度的去除了蛋白质和基因组 DNA 等杂质,可以直接用于 RT-PCR、NorthernBlot、体外翻译及 mRNA 纯化等实验。

产品特点

- ◇ 适用范围广;
- ◇ 操作简单快速,整个过程可在 1h 内完成;
- ◇ 操作可视,溶液呈粉红色,便于分离水相及有机相。

适用范围

本产品适用于次生代谢较少的植物组织(如幼苗、幼叶等)、培养细胞、动物组织、微生物样品的总RNA 提取。

注意事项

- 1. 本产品含有苯酚等物质,使用时应穿戴防护物品,避免沾染皮肤、眼睛及衣物,防止口鼻吸入。 如不慎沾染皮肤或眼睛,立即用大量清水或生理盐水冲洗,必要时寻求医生帮助。
- 2. 使用 RNase-free 的实验器具,包括枪头和离心管,并且 RNA 实验用的器具需专门使用,不要用于其它实验,避免交叉污染。



使用方法

操作示例

自备试剂: 氯仿、异丙醇、75%乙醇 (用 RNase-free 水配制) 、RNase-free 水

1.样品准备

1.1 动物/植物组织

a.取新鲜组织立即用液氮速冻,迅速转移至液氮预冷的研钵中充分研磨,期间不断加入液氮,直至研 磨成粉末状(无明显可见颗粒);

b.将研磨至粉末状的样品转移到离心管中,每 50~100mg 样品加入 1mLRNA 总提取试剂,匀浆处

c.室温静置 5min(使核酸蛋白复合物完全分离)。

注意: 样品体积一般不要超过 RNA 总提取试剂体积的 10%, 若取样量过多会导致提取的 RNA 中有 DNA 污染。

1.2 贴壁细胞

a.倒出培养液,用 1×PBS 清洗 1次;

b.每 10cm² 培养面积生长的细胞中加入 1mLRNA 总提取试剂,轻微晃动,使本产品充分覆盖到 细 胞表面,使用移液枪反复吹打使细胞裂解;

c.将含有细胞的裂解液转移至离心管中,用移液枪反复吹打直至裂解液中无明显沉淀;

d.室温静置 5min。

1.3 悬浮细胞

a.将悬浮培养细胞连同培养液一起倒入离心管中, 8,000×q4℃离心 2min 收集细胞;

b.每 5×10⁶~1×10⁷ 个细胞加入 1mLRNA 总提取试剂,用移液枪反复吹打直至裂解液中无明显沉淀; c.室温静置 5min。

1.4 血液

a.直接取新鲜的血液,加入 3 倍体积的 RNA 总提取试剂 (推荐 0.2mL 全血加入 0.6mLRNA 总提取 试剂),充分振荡混匀;

b.室温静置 5min。

注意: 样品经 RNA 总提取试剂匀浆后,可在-80℃保存至少一个月。

可选步骤:

1.对于蛋白、脂肪、多糖或胞外物质含量高的样品,如肌肉组织、脂肪组织或植物的块茎,可以在匀 浆处理后 12,000×g4℃离心 10min 以除去不溶物质,取澄清的匀浆溶液进行下一步操作。



2.向上述裂解液中加入 1/5RNA 总提取试剂体积的氯仿,盖好管盖,剧烈振荡 15s(彻底混合有利于后续的相分离),溶液呈乳浊状,室温静置 5min;

3.12,000×g4℃离心 15min。此时样品分为 3 层,即上层无色的水相(含 RNA)、中间层和下层粉红色的有机相。小心吸取上层水相(水相体积约占 RNA 总提取试剂体积的 60%,建议吸取 500μL 左右,避免吸取到中间层导致基因组 DNA 的污染)转移至新的离心管中;

4.加入等体积的异丙醇,上下颠倒混匀,室温放置 10min;

5.12,000×g4℃离心 10min,去上清,此时管底会出现白色胶状沉淀;

6.加入 1mL75%乙醇 (用 RNase-free 水配制) 洗涤沉淀。7,500×g4℃离心 5min, 弃去上清;

7. 重复步骤 6;

8.室温晾干 5~10min。加入适量的 RNase-free 水溶解沉淀,必要时可用移液器轻轻吹打或在 55~60℃孵育 5~10min,待沉淀完全溶解后将所得到的 RNA 溶液置于-80℃ 保存或用于后续试验。

注意:不能使用真空离心机或加热的方法干燥 RNA,过分干燥会使 RNA难以溶解,导致 OD260/OD280 值偏低。

常见问题与解决办法

Q1: RNA 降解?

A1:

- 1. 样品处理或保存不当。尽量使用新鲜样品,取样后立即液氮速冻置于-80℃冰箱保存,尽快使用;
- 2. 样品过量。请参考说明书推荐取样量;
- 3. 环境、试剂或耗材中含有 RNase。使用 RNase-free 的试剂及耗材,建议在通风橱中操作。

Q2: RNA 得率较低?

A2:

- 1. 样品研磨或裂解不充分。建议参考说明书充分研磨、振荡样品,使样品充分裂解;
- 2. 取样量较少。适当增加样品量;
- 3. RNA 沉淀未完全溶解。RNA 不能过分干燥,必要时用移液器轻轻吹打或在 55~60℃孵育 5~10min。