

总 RNA 快速提取试剂 (含 RNApure)

Total RNA Extraction Reagent (RNApure)

1、查看荧光定量 PCR 实验常见问题请登录: http://www.yfxbio.com/article.asp?m_id=131

2、参考翼飞雪 qPCR 引用文献请登录: http://www.yfxbio.com/article.asp?m_id=111

(本试剂盒仅供科研使用)

产品名称

4°C 稳定储存 12 个月。

产品编号	产品名称	产品规格
YFXM0011P	总 RNA 快速提取试剂 Total RNA Extraction Reagent	100mL
	RNApure	50mL

产品简介

翼飞雪 RNApure 为总 RNA 提取试剂中的氯仿替代物, 其使用效果与氯仿完全相同, 但是由于其沸点高达 120°C 以上, 因此常温不挥发, 避免了氯仿常温挥发对人体带来的损害。

翼飞雪总 RNA 快速提取试剂可以在 1 小时的时间, 从动物组织、植物组织、培养细胞、细菌细胞等样本中提取完整的总 RNA, 提取的总 RNA A260/A280 值约在 1.7~2.1 之间。另外, 提取过程中加入氯仿后, 保留下层的酚相可提取 DNA 和蛋白质。

本总 RNA 快速提取试剂可以从 1mg 组织样本中提取约 1-10 μ g 总 RNA, 从 10⁶ 培养细胞中提取 5-15 μ g 总 RNA, 由于本试剂提取的总 RNA 可以很好的避免 DNA 或者蛋白质的污染, 因此提取产物总 RNA 可以用于 Poly (A+) 筛选、体外翻译、RNA 印迹分析、斑点杂交、cDNA 文库构建、RT-PCR、荧光定量 PCR 等后续分子生物学实验。

注意事项

1. 仔细阅读本说明书, 每个品牌的产品都有各自特性, 切忌按照使用其他品牌试剂盒的提取经验, 来使用本试剂。
2. 塑料制品处理: 尽可能使用一次性无菌塑料制品, 已标明 RNase-Free 的塑料制品, 未开封前可直接使用。未标明 RNase-Free 的塑料制品处理方式: 在玻璃杯中倒入去离子水, 加入 DEPC 至其终浓度为 0.1% (DEPC 活性很强的剧毒物, 需在通风橱中小心使用)。将待处理的塑料制品放入一个可高温高压灭菌的容器中, 倒入配制好的 DEPC 水, 使塑料制品的所有部分都浸泡在溶液中, 在通风橱中 37°C 或室温下处理过夜。将 DEPC 水小心倒入废液瓶中, 将处理过的塑料制品连同容器以铝箔封口, 高温高压灭菌 30min, 然后将塑料制品在 80°C 烘烤干燥, 置于洁净处备用。
3. 玻璃和金属制品处理: 250°C 烘烤 3 小时以上。
4. RNase 另一污染源是移液器, 根据移液器制造商的要求对移液器进行处理。一般情况采用 DEPC 配制的 70% 乙醇擦洗移液器的外部和内部, 基本达到要求。

提取步骤

样本裂解

1、组织液氮研磨：取适当组织块放入研钵中，加入少量液氮，迅速研磨，待组织变软，再加入少量液氮，再研磨，反复三次，按照 1mL 总 RNA 快速提取试剂：50-100mg 组织块 的比例，加入提取试剂，进行后续提取操作。

2、组织匀浆：按照 1mL 总 RNA 快速提取试剂：50-100mg 组织块 的比例，向组织中加入提取试剂，电动匀浆机充分匀浆 1-2min，进行后续提取操作。

注：1) 组织块的体积同事要注意不能超过提取试剂提及的 10%，否则匀浆效果不好。

2) 如组织为肌肉、脂肪、植物结节部位等富含蛋白、脂肪、多糖的样本，匀浆后可能仍会残留有部分不溶物质，可 4℃ 12,000g 离心 10min，取上清至于零一洁净离心管中，进行后续提取操作。

3、贴壁培养细胞：按照 1mL 总 RNA 快速提取试剂：10cm² 培养细胞 的比例，直接进行消化裂解，进行后续提取操作。

4、悬浮培养细胞：按照 1mL 总 RNA 快速提取试剂：5×10⁶ 培养细胞 的比例，直接进行收集裂解，进行后续提取操作。

5、细菌/酵母：细菌细胞按照 1mL 总 RNA 快速提取试剂：5×10⁷ 细胞、酵母细胞按照 1mL 总 RNA 快速提取试剂：5×10⁶ 细胞 的比例，直接进行收集裂解，进行后续提取操作。

总 RNA 提取

6、将上述各裂解样本室温静置 5min。

7、按照 1mL 总 RNA 快速提取试剂：400μL RNApure 的比例加入 RNApure，剧烈震荡混匀后室温静置 5-10min。

注：如提取组织为脂肪组织，加入 RNApure 的体积需调整为 1mL 总 RNA 快速提取试剂：800μL RNApure。

8、4℃ 12000g 离心 15min。

9、小心吸取上层水相，转移至另一 RNase-Free 离心管。

注：1) 不可吸取中间界面。

2) 下层酚相可保存于 4℃，根据需要用于提取 DNA 或蛋白质。

10、按照 1mL 总 RNA 快速提取试剂：0.5mL 异丙醇 的比例加入异丙醇（异丙醇的体积与吸取水相的提及大致相当），充分颠倒混匀，室温静置 5-10min。

11、4℃ 12000g 离心 15min，弃去上清。

12、按照 1mL 总 RNA 快速提取试剂：1mL 75%乙醇 的比例加入 75%乙醇，温和震荡离心管，充分悬浮沉淀。

13、4℃ 8000g 离心 5min，最大限度弃去上清。

14、室温晾干或真空干燥 1-5min。

注：不可过于干燥，否则会导致 RNA 难以溶解。

15、取 50-100μL RNase-Free H₂O 或者 TE 缓冲液溶解总 RNA。

16、提取的总 RNA 应尽快进行后续实验。