



总RNA提取试剂

Total RNA Extraction Reagent

#AQ618-100ml

产品简介

Total RNA Extraction Reagent是一种广谱型的总RNA提取试剂，主要成分为异硫氰酸胍和酚，具有极强的裂解能力，能迅速裂解细胞和组织样本，抑制细胞释放出的核酸酶，保证RNA的完整性。在加入氯仿离心后，溶液会分成三层：上层无色水相、中间层和下层红色有机相，RNA分布在上清无色水相中。收集上清层后，经异丙醇沉淀便可得到总RNA。提取的总RNA完整性好，无蛋白和DNA污染，可用于各种分子生物学实验，如RT-PCR、Real-time PCR、Northern、Dot Blot等。本产品适用于从培养细胞、动物组织、植物样品、各种微生物等中提取高纯度的总RNA。

储存条件

2-8℃避光保存，有效期24个月。

自备材料

氯仿、异丙醇、75%乙醇(DEPC处理水配制)、DEPC处理水、RNase-Free的1.5ml离心管和枪头、低温高速离心机

使用说明

1. 样品处理：

贴壁细胞：去除培养液，在培养板中加入适量Aqzol（每10cm²面积加入1ml Aqzol），用移液器吹打3-5次使细胞裂解。

悬浮细胞：离心收集细胞(<5×10⁷细胞)，去除培养液。轻弹打散细胞团。加入1ml Aqzol，用移液器吹打3-5次使细胞裂解。

植物组织：用液氮将新鲜植物样品磨成粉末，将30-50mg样品转至离心管中，迅速加入1ml Aqzol Reagent，充分涡旋混匀。

动物组织：取新鲜或-70℃冻存的组织尽量剪碎，每30-50mg组织加入1ml Aqzol 用匀浆仪进行匀浆处理。或在液氮中研磨后加入1ml Reagent，混匀。

注意：样品体积一般不要超过Aqzol Reagent体积的10%。



2. 对某些蛋白，多糖或脂含量很高的细胞或组织，Aqzol裂解后可能会有不溶物或油脂状漂浮物。需4℃ 12,000g离心15分钟，然后吸取澄清的Aqzol裂解产物至一新的离心管中。
3. 室温放置5分钟，使样品充分裂解。
4. 每1ml Aqzol加入0.2ml氯仿，剧烈涡旋振荡15秒，室温放置2-3分钟。
5. 4℃ 12,000g离心15分钟，此时样品分成三层：上层无色水相、中间层、下层红色有机相，吸取含总RNA的上层无色水相（约600 μl）至一新离心管中。
6. 加入与水相等体积的异丙醇，颠倒混匀，室温放置10分钟。
（若提取microRNA等小RNA，推荐放-70℃助沉淀）
7. 4℃ 12,000g离心10分钟，弃上清，管底可见RNA沉淀。
8. 加入1ml 75%乙醇(DEPC水配制)，颠倒混匀，洗涤RNA沉淀。
9. 4℃ 12,000g离心3分钟，弃上清，剩余的少量液体可短暂离心，然后用枪头吸出，注意不要吸弃沉淀。
10. 室温放置2-3分钟，晾干（沉淀不要过分干燥，以免难于溶解）。加入20-50 μl DEPC水溶解RNA，然后放-70℃冻存。

注意事项

1. 本产品仅限用于科学研究。
2. 本产品含有苯酚，避免直接接触皮肤或吸入。请佩戴一次性手套、口罩和防护目镜。如皮肤接触，请立即用大量水冲洗，如仍有不适，请前往医院治疗。
3. RNA容易降解，实验中所有离心管、枪头及相关溶液都必须无RNA酶污染。操作时要戴一次性口罩和手套，实验中要勤换手套。并在单独的洁净区操作。

常见问题

1. RNA发生降解
 - a 组织离体后迅速投入液氮冷冻，之后放液氮或-70℃保存。提取的样品避免反复冻融，否则影响RNA提取得率和质量。
 - b 实验中所有离心管、枪头及相关溶液都必须无RNase污染，并在洁净区域操作。
 - c 组织样品加入液氮研磨要迅速，不得融化。
2. 提取的RNA有基因组污染
 - a 加入氯仿后要在低温下离心，氯仿在常温下会与水以一定的比例互溶，因此，常温离心会导致上层水相中含有少量基因组DNA污染。
 - b 吸取上层无色水相时，应非常小心，避免吸到中间相。