

## Product Manual

## 产品说明书

### 产品货号

PR01010

### 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,用异丙醇和 75% 乙醇沉淀、洗涤可以得到纯度高的总 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。

### 应用范围

RNA 提取

### 储运条件

常温避光保存,有效期见外包装;常温运输。

### 产品特点

**提取效果好:** 提取得率高、纯度高;

**简便快速:** 操作步骤简单、省时;

**性价比高:** 性能好、价格经济优惠,适合高通量提取需求。

### 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。
- 5.本产品仅限于科研,不得用于临床诊断或治疗,不得用于食品或药品,不得存放于普通住宅内。
- 6.为了您的安全和健康,请穿实验服并戴一次性手套操作。

### 自备材料

#### 1.耗材

- (1) 2 mL 离心管 (2) 0.01% 的 DEPC 处理过并高温高压灭菌或无 RNase 的枪头

#### 2.试剂

- (1) 异丙醇 (2) 无水乙醇 (3) 氯仿

### 操作步骤

#### 1.不同样本裂解匀浆

##### (1) 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 通用型总 RNA 抽提试剂, 直接用玻璃匀浆器匀浆至无明显组织块。

#### (2) 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 cm<sup>2</sup> (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 通用型总 RNA 抽提试剂。

2) 晃动培养板, 使通用型总 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。

#### (3) 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 × 10<sup>6</sup> 个动物、植物、酵母细胞或 1 × 10<sup>7</sup> 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: (1) 样本过多可能会导致裂解不充分, 导致 RNA 浓度和纯度降低。**

#### (2) 植物组织样本建议液氮研磨。

2.按每使用 1 mL 通用型总 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。

3.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。

4. (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。

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)。