



中科瑞泰（北京）生物科技有限公司

Tel: 010-58437227 82598075

Fax: 010-82597807

http:// [www.real-tims.com.cn](http://www.real-tims.com.cn)

E-mail: [real-times@163.com](mailto:real-times@163.com)

## RNA 提取试剂 (目录号: RTR2301)

### ● 试剂内容:

名称	RTR2301-03
RNA 提取试剂	100ml
说明书	1 份

### 储存条件和效期:

2-8℃ 避光保存 1 年以上。

### 产品简介:

RNA 提取试剂是从细胞和组织中提取总 RNA 的即用型试剂, 可以提取细菌、植物、动物组织和细胞以及新鲜血液的总 RNA。提取的总 RNA 可用于 Northern blot、RT-PCR、Dot blot、RNase 保护分析等分子生物学实验。

### 产品特点:

- 1 分相明显: 本试剂为**粉红色**, 便于氯仿分相后区分水相和有机相。
- 2 结果可靠: 该试剂含有强烈抑制 RNase 活性的物质, 可靠保护 RNA 不降解。
- 3 价廉物美: 其提取效果与国外进口产品相媲美, 价格却低于它的三分之一。

### 操作步骤:

#### 实验前需要准备的试剂和耗材:

氯仿、异丙醇、75%乙醇(用 RNase-free 水配制)、RNase-free 的水、RNase-free 的耗材(Tip 头, 离心管等)。

### 1. 匀浆处理 (Homogenization)

#### 组织中提取总 RNA:

- 1) 植物组织: 植物叶片直接放入研钵中, 加入少量液氮, 迅速研磨成粉末, 每 50-100mg 植物叶片加入 1ml RNA 提取试剂。
- 2) 动物组织: 按 10-30mg 组织加入 1ml RNA 提取试剂, 用电动匀浆器或者一次性研磨杵充分匀浆。

#### 培养细胞中提取总 RNA:

- 1) 贴壁细胞: 无须胰酶消化, 可直接用 RNA 提取试剂进行裂解, 每 10cm<sup>2</sup> 培养面积加 1ml RNA 提取试剂。
- 2) 悬浮细胞: 可直接离心收集、裂解, 每 1ml RNA 提取试剂可裂解 5 × 10<sup>6</sup> 动物或酵母细胞, 或 10<sup>7</sup> 细菌细胞。

#### 血液中提取总 RNA:

直接取新鲜的血液, 加入 3 倍体积红细胞裂解液, 混匀后室温放置 10 分钟, 9,000 g 离心 1 分钟。彻底吸弃上清, 收集白细胞沉淀。每 100-200μl 血液收集的白细胞沉淀加入 1ml RNA 提取试剂。

### 2. 分层 (Phase Separation)

根据样品, 选择使用方法 A 或者方法 B。如果不确定, 则使用方法 B。

A (细胞, 血液, 一般动物组织) - 室温静置 5 分钟, 再按照 1 ml RNA 提取试剂 使用 200  $\mu$ l 的比例加入氯仿, 用力颠倒离心管以混匀; 室温静置 3-5 分钟使之分层后, 4 $^{\circ}$ C 12,000g 离心 15 分钟。

B (植物, 脂肪及肝脏等某些杂质含量较高的样品) - 室温静置 5 分钟后, 4 $^{\circ}$ C 12,000 g 离心 10 分钟, 将上清移入另外一个离心管中。再按照 1 ml RNA 提取试剂使用 200 $\mu$ l 的比例加入氯仿, 用力颠倒离心管以混匀。室温静置 2-5 分钟使之分层后, 4 $^{\circ}$ C 12,000 g 离心 15 分钟。

注: • 4 $^{\circ}$ C 离心对于降低基因组 DNA 的污染是很重要的。

- 杂质含量高的样品一定要使用 2-B 操作。2-B 操作不仅可以大部分杂质离心去除, 也可以将大片段的基因组 DNA 离心去除, 方便加入氯仿后的分层, 不过, 如果想同时抽提总 RNA 和基因组 DNA, 则使用 2-A 操作。
- 加入氯仿后的混匀是非常重要的, 否则静止分相易出现分相倒置, 即水相在离心管下部而有机相在上部。不推荐振荡混匀, 而推荐直接用手混匀: 将管底斜向朝上, 手斜向快速摇动, 使体系成粉色乳状。

### 3. RNA 沉淀 (RNA Precipitation)

小心将上层水相 (通常可吸取 550 $\mu$ l) 移至另外一个离心管中, 再加入等体积冰冷的异丙醇混匀, 室温放置 10-20 分钟, 4 $^{\circ}$ C 12000g 离心 10min, 弃上清, RNA 沉淀于管底。

注:

- 中间层和红色下层置于 4 $^{\circ}$ C 保存, 以便接下去抽提基因组 DNA。
- 用冰冷的异丙醇能更迅速的沉降 RNA。
- 取上层水相时要特别小心, 绝对不要吸入白色中间层及红色下层。移取水相时要使用小体积移液器: 200 $\mu$ l 移液器, Tip 的尖嘴要贴在管壁, 慢慢松手吸出液体。
- 对于脂肪类组织, 包括脑组织, 在上清的最上层为脂肪, 取上清时不要吸入, 必要时用等体积氯仿对上清再抽提一次。
- 如果是杂质含量高的样品, 强烈建议将此步操作改为: 在上清中加入一半体积的异丙醇, 混匀后, 再加入一半 (指上清) 体积的 RNA 沉淀试剂 (1.2M NaCl, 0.8M 柠檬酸钠)。再混匀后, 室温放置 10 - 20 分钟。
- 弃上清后, 将离心管置于离心机中离心数秒, 再用移液器将残留液体小心吸出。这是最彻底的去上清的方法, 比倒掉上清后再将离心管倒扣在吸水纸上的方法可靠得多。如果是杂质含量高的样品, 强烈建议增加此步操作。如果肉眼看不见沉淀, 则不要用移液器吸。

### 4. RNA 漂洗 (RNA Wash)

a. RNA 沉淀中加入 1ml 75% 乙醇 (用 RNase-free 水配制), 温和振荡离心管, 悬浮沉淀。每 1ml RNA 提取试剂加入 1ml 75% 乙醇。

b. 4 $^{\circ}$ C 7,500 g 离心 5min, 弃上清。

注: 转速不要高于 7,500g, 否则得到的 RNA 不易溶解。

c. 短暂快速离心, 用移液器小心吸弃上清, 注意不要吸弃沉淀。室温放置 1-2 分钟晾干沉淀。

注: RNA 样品不要过于干燥, 否则很难溶解。

### 5. 溶解 RNA (Redissolving the RNA)

根据需要, 沉淀中加入适量 (一般可加 50-100 $\mu$ l) RNase-free 水, 轻弹管壁, 以充分溶解 RNA, -70 $^{\circ}$ C 保存。