

## 组织细胞RNA提取试剂盒（异硫氰酸胍提取法）

产品货号：11132

产品规格：50T/100T

### 产品简介：

RNA的种类来源比较多，提取制备的方法各异，一般有苯酚法、去污剂法和盐酸胍法，其中最常用的是苯酚法，即Trizol法提取RNA。异硫氰酸胍作为强的阴离子表面活性剂，可以有效的解离核蛋白与核酸的复合体，并对RNase产生强烈的抑制作用，保持RNA的完整性。加入氯仿等试剂并离心，上层清液用异丙醇沉淀回收总RNA。

组织细胞RNA提取试剂盒(异硫氰酸胍提取法)适用于从各种组织或细胞中快速分离总RNA，既可用于小量样品(50~100mg组织、 $5 \times 10^6$ 细胞)，也可用于大量样品(>1g组织、 $>10^7$ 细胞)。提取的总RNA质量高，可用于Northern blot、Dot blot、polyA筛选、体外翻译、RNase保护分析和分子克隆。本产品具有以下特点：①适用范围广；②操作简单，整个过程90min内完成；③纯度高；④污染少。

### 产品组成：

| 试剂名称                                 | 50T  | 100T  | 保存条件  |
|--------------------------------------|------|-------|-------|
| 试剂(A): RNA 提取液                       | 30ml | 60ml  | 4℃，避光 |
| 试剂(B): 乙酸钠缓冲液                        | 3ml  | 6ml   | 室温    |
| 试剂(C): RNA 分离液                       | 30ml | 60ml  | 4℃，避光 |
| 试剂(D): RNA 沉淀液                       | 30ml | 60ml  | 室温    |
| 试剂(E): RNA 洗涤液                       | 50ml | 100ml | 室温    |
| 试剂(F): RNase-free ddH <sub>2</sub> O | 10ml | 20ml  | 室温    |
| 试剂(G): RNA 保存液                       | 10ml | 20ml  | 4℃，避光 |

### 自备材料：

1. 液氮、研钵或匀浆器
2. 经RNase free处理的移液器吸头、EP管等耗材
3. 低温高速离心机、低温冰箱
4. 无菌PBS缓冲液

### 操作步骤 (仅供参考)：

1. 实验准备：RNA分离液室温放置15min 确保两相分开，无菌PBS缓冲液、RNA提取液和RNA沉淀液冰上预冷。
2. 样品准备
  - (1) 贴壁细胞：①直接裂解：直接在培养瓶/皿中加入RNA提取液裂解细胞，每10cm<sup>2</sup>面积加1ml，用移液器吹打混匀。②胰蛋白酶消化：用无菌PBS洗涤细胞后，加入含有0.05~0.25%胰蛋白酶的PBS处理细胞，当细胞脱离容器壁后，加入含有血清的培养基终止反应，将细胞溶液转移至无RNase的离心管中，以下参考悬浮细胞相关操作步骤。
  - (2) 悬浮细胞：收集(1~5)×10<sup>6</sup>~10<sup>7</sup>动物、植物和酵母细胞或10<sup>7</sup>细菌细胞加至1.5ml离心管，5000~6000g离心5min，用无菌PBS重悬细胞沉淀，再次5000~6000g离心5min收集细胞沉淀，去除上清。收集细胞时一定要将溶液去除干净，否则裂解不完全，降低RNA收获率。向沉淀中加入加入0.5ml RNA提取液，充分振荡混匀。
  - (3) 组织：取新鲜动物或者植物组织或者-70℃冻存组织，50~100mg组织在液氮中充分研磨或者加入0.5ml RNA



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

QQ: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

提取液研磨或者用匀浆器匀浆处理。样品体积一般不超过提取液体积的 10%。研磨要迅速，以 1min 为佳。

(4) 血液：取 0.5~1ml 新鲜或冻存的血液，12000g 离心 5min，去除血浆，加入 0.5ml RNA 提取液，充分振荡混匀。

3. 核酸分离：将细胞液或匀浆液转移至 1.5ml 离心管，加入 1/10 体积的乙酸钠缓冲液，颠倒混匀 5~6 次。加入 RNA 分离液，颠倒混匀 5~6 次后震荡 10-20s，冰上放置 15 min,使核蛋白与核酸完全分离。
4. 样品分层：12000 g 4℃ 离心 10~15min。RNA 在上层水相。
5. 沉淀 RNA：吸取上层水相(约 0.5ml)转移至新的 1.5ml 离心管中(不要吸取任何中间层物质,否则会有染色体 DNA 污染)，加入等体积 RNA 沉淀液混匀，冰上放置 10~15 min。12000 g 4℃ 离心 10min，离心后管侧或管底形成胶状沉淀，弃上清。
6. 洗涤 RNA：加入 1ml RNA 洗涤液轻轻洗涤沉淀，冰上放置 5~10min，7500g 4℃ 离心 5min，弃上清。室温干燥 10~30min，不宜过分干燥，否则 RNA 难以溶解。
7. 溶解 RNA：加入 30~50ul RNase-free dd H<sub>2</sub>O 充分溶解，-70℃ 长期保存或直接用于后续试验。对于肝、胰腺、肾等组织中 RNase 含量高的样品沉淀用 RNA 保存液溶解。

#### 注意事项：

1. 样品保存：加入 RNA 提取液混匀后，样品可在-70℃ 放置 1 月；RNA 样品可以在 70 %酒精中-70℃ 保存 2~4 周；如果需要长期保存，应置于超低温冰箱中保存。
2. RNA 提取液和 RNA 分离液含有腐蚀性物质，污染皮肤或眼睛后，立即用清水或生理盐水冲洗，必要时寻求医生的帮助。
3. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

**有效期：**12 个月有效。常温运输，4℃ 保存。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com