总 RNA 提取试剂
Total RNA Isolation Reagent

本产品常温运输；避光保存于4~25℃，保质期24个月。

货号规格

YY101　100mL
YY101L　100mL×5

产品特点

色彩鲜艳——便于区分水相和有机相的分界面，方便吸取上清；
高性价比——产品质量丝毫不逊色于进口同类产品，而价格仅为其一半左右。

产品简介

雅酶生物的总RNA提取试剂适用于从细胞和组织中快速分离RNA/DNA/蛋白质。整个实验过程操作简单省时，所提取的RNA纯度高，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。本品含有苯酚，如不慎接触皮肤，应立即用大量流水冲洗。

使用说明

请确保您所使用的离心管、移液器吸头以及其它器皿未被RNase污染。金属和玻璃制品可在200℃烘烤2h以上。塑料制品和水可用0.01%的 DEPC 水浸泡过夜，高压灭菌。所有溶液应使用DEPC处理后的水配制。

分离 RNA

1. 裂解匀浆：

   A．组织样品 将组织用液氮在研钵中速冻后，碾磨成极细的粉末，期间应不断添加液氮，保持组织样品处于冷冻状态。按50~100mg组织加入1mL总RNA提取试剂（样品体积不应超过试剂体积的10%），此时总RNA提取试剂由于低温会凝固。继续研磨，尽量将凝固的试剂在其融化前磨成粉末，以使总RNA提取试剂和组织粉末尽快混合充分。几分钟后，随着研钵的温度上升，总RNA提取试剂会慢慢融化。充分研磨匀浆样品后，将裂解液转移到一个1.5mL的离心管内。如使用的组织为容易匀浆的样本，如大脑、肝脏等，可直接用玻璃匀浆器匀浆。

   B．贴壁培养的细胞 吸去培养板中的培养基，按每10cm^2（相当于一个3.5cm直径的培养皿或6孔板的一个孔的面积）培养面积直接加入1mL总RNA提取试剂。晃动培养板，使总RNA提取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1.5mL的离心管内。

   C．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^{6}个动物、植物、酵母细胞或1×10^{7}个细菌细胞加入1mL总RNA提取试剂，反复吹打，使细胞分散裂解。一些酵母细胞或细菌细胞可能需要用匀浆仪处理。
2. 裂解后的匀浆液于室温放置5min，使核酸和蛋白质复合体完全分离；
3. **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℃ 12,000g离心10min，取上清液进行下一步操作；
4. 按每使用1mL总RNA提取试剂加入0.2mL氯仿，剧烈震荡混匀15s，室温放置3~5min；
5. 于4℃ 12000g离心15min。样品将分为三层：下层为绿色有机相，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。加入等体积异丙醇，室温放置10min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℃沉淀30min以上。如需同时纯化DNA和蛋白质，请保留有机相和中间层；
7. 于4℃ 12,000g离心10min，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. 用1mL 75%乙醇洗涤RNA沉淀。于4℃ 12000g离心10min，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3~5min即可。加入适量无RNase的水溶解沉淀。

分离 DNA

1. 在上述 **分离 RNA** 第6步的有机相和中间层中，按每使用1mL总RNA提取试剂加入0.3mL无水乙醇，混匀，室温放置3min，于4℃ 12,000g离心5 min；
2. 将上清转移到一个干净的离心管内，以备后续分离蛋白。DNA沉淀用含10%乙醇的0.1M柠檬酸钠溶液充分洗涤。按每使用1mL总RNA提取试剂加入1mL洗涤液，室温放置30min，于4℃ 12,000g离心5min，弃上清，重复一次；
3. 用75%乙醇洗涤沉淀。按每使用1mL总RNA提取试剂加入1.5mL 75%乙醇，室温放置10~20min，期间不时颠倒混匀。于4℃ 12000g离心5min，弃上清；
4. 室温晾干DNA沉淀。用8mM的NaOH溶液溶解DNA；
5. 将DNA溶液pH调整至7.5。按每1mL 8mM NaOH溶液加入160μL 0.1M的HEPES溶液。

分离蛋白质

1. 取沉淀DNA后的上清，按每使用1mL总RNA提取试剂加入1.5mL异丙醇，室温放置10min，于4℃ 12,000g离心5min，弃上清；
2. 用含0.3M盐酸胍的95%乙醇洗涤蛋白质沉淀。按每使用1mL总RNA提取试剂加入2mL洗涤液，室温放置20min，于4℃ 7500g离心5min，弃上清。重复两次后，用2mL无水乙醇再洗一次；
3. 晾干沉淀，用1% SDS溶液溶解蛋白沉淀，必要时可于50℃加热助溶。离心，弃不溶物。上清即可用于Western Blot分析。

注意事项

1. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。本品含有苯酚，如不慎接触皮肤，应立即用大量流水冲洗；
2. 本产品仅限科研使用。