

天
净
沙
系
列

CAT#:3070-100
常温运输, 4℃保存

TIANDZ

动物 RNA_{OUT}

Animal RNA_{OUT}

使用手册 V1.7

北京天恩泽基因科技有限公司

北京市海淀区上地信息路 26 号北京市留学人员海淀创业园中关村创业大厦 506

网址: www.tiandz.com; 电话: 400-6765278; 电邮: order@tiandz.com

<p>产品及特点</p>	<p>本产品是类似于 TRIzol、基于异硫氰酸胍/酚/氯仿提取原理的快速总 RNA 提取试剂，可用于从各种动物组织（包括白细胞）和部分植物材料中快速提取总 RNA。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 操作简单快速，只要 10 分钟左右，可以全在室温下进行。 2. RNA 质量高，OD260/OD280 一般在 1.9 左右。一般不含用 RT-PCR 可以检测到的基因组 DNA 污染。 3. 适用于大部分实验材料，如培养细胞、各种动物材料和少数植物材料。植物 RNA 的提取最好使用天泽基因的植物 RNAout。 4. 性价比高于进口 TRIzol 和 TRI Reagent 等同类产品。 											
<p>规格及成分</p>		<table border="1"> <thead> <tr> <th>成 份</th> <th>编 号</th> <th>小立盒包装</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>动物 RNAout</td> <td>3070a</td> <td>100 mL (广口棕色玻璃瓶)</td> </tr> <tr> <td>使用手册</td> <td>3070sc</td> <td>1 份</td> </tr> </tbody> </table>	成 份	编 号	小立盒包装	动物 RNAout	3070a	100 mL (广口棕色玻璃瓶)	使用手册	3070sc	1 份	
成 份	编 号	小立盒包装										
动物 RNAout	3070a	100 mL (广口棕色玻璃瓶)										
使用手册	3070sc	1 份										
<p>运输及保存</p>	<p>常温运输，4℃保存，有效期一年。</p>											
<p>自备试剂</p>	<p>氯仿、异丙醇、75%乙醇、RNase-free 水。</p>											
<p>使用方法</p>	<p>注意：下面的操作步骤是用 1 mL 本产品进行的微量提取的，细胞使用量一定要准确，不能超过下述用量，否则将超出本产品的裂解能力，RNA 产量将急剧降低。如果样品量大，请按比例增加各成份的用量。RNA 工作环境最好用高效无毒的固相 RNase 清除剂（CAT#：3080）彻底处理。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 对贴壁细胞（10 平方厘米）：吸尽培养液，加入 1 mL 的本产品用枪充分吹打确保细胞全部裂解，然后将裂解液转移至干净的 1.5 mL 塑料离心管中，进入第 6 步。 2. 对悬浮细胞（五百万至一千万个）：离心收集细胞，吸尽液体，加入 1 mL 本产品，用枪充分吹打确保细胞全部裂解，然后将裂解液转移到干净的 1.5 mL 塑料离心管中，进入第 6 步。 3. 对新鲜组织（50-100 mg）：将新鲜组织剪切成小块，放入 10 mL 或 15 mL 塑料离心管中，加入 1 mL 的本产品，用 Polytron 剪切式匀浆器冰上匀浆 30 秒左右，将匀浆液转移至新的 1.5 mL 塑料离心管中，进入第 6 步。注意：对肝、脾、胰、肾等细胞分裂十分旺盛的组织（细胞中含大量正在复制的 DNA），使用量不要超过 30-50 mg，否则十分容易产生 DNA 污染。对 10 mg 以下的组织，最好加入本公司的微量 RNA 助沉剂。 											

4. 对 RNA_{LOCKER} 保存的组织 (50-100 mg): 先用纸吸去 RNA_{LOCKER} 液体后再剪切成小块, 其余操作同第 3 步。RNA_{LOCKER} 处理后的组织韧性很强, 匀浆时间需要适当延长。
5. 对液氮中保存的组织 (50-100 mg): 在研钵中研磨成粉, 加入 1 mL 本产品, 用枪充分吹打确保细胞全部裂解, 然后将裂解液转移到干净的 1.5 mL 塑料离心管中, 进入第 6 步。
6. 在装有裂解物/匀浆物的 1.5 mL 塑料离心管中加入 0.2 mL 自备氯仿, 振荡器上充分振荡混匀 30 秒。注意: 一定要把管底的溶液震荡起来, 否则只是液面的振动。
7. 13000-15000 g 室温离心 3 分钟。
8. 将上清液 (约 0.6 mL) 转移到另一干净的 1.5 mL 塑料离心管中。下层有机相 (蓝色) 和中间层含有 DNA 和蛋白质, 避免触及, 否则将产生蛋白质和 DNA 污染。为保险起见, 可以留下 50-100 uL 上清液不取。
9. 对脂类丰富的组织 (如脂肪组织和脑组织), 需再重复氯仿抽提一到两次以让氯仿充分去除脂类分子。
10. 在上清液中加入等体积的异丙醇, 振荡器上振荡 30 秒混匀。
11. 13000-15000 g 室温离心 5 分钟, 离心底的侧面将形成 RNA 沉淀。
如果组织使用量低于 10 mg 或需要提高 RNA 回收率, 可以将离心时间延长到 20 或 30 分钟。
12. 小心吸弃上清液, 注意不要吸弃 RNA 沉淀。
13. 在含 RNA 沉淀的离心管中加入 1 mL 75%乙醇, 振荡混匀 30 秒。
14. 13000-15000 g 室温离心 1 分钟。
15. 小心吸弃上清液, 注意不要吸弃 RNA 沉淀。
16. 重复第 13-15 的洗涤步骤一次 (也可以省略)。
17. 短暂快速离心, 用移液枪小心吸弃残留乙醇 (约 50 uL)。注意不要吸弃 RNA 沉淀。此步十分重要, 否则残留的乙醇会影响 RNA 的后续使用。
18. 室温放 1-2 分钟后立即加入 50-100 uL RNase-free 水使 RNA 沉淀溶解。千万不要用真空离心法使 RNA 沉淀过于干燥, 否则 RNA 将变得十分难溶。RNA 样品可以立即使用或存放于 -80°C 待用。
注意: 由于 RNase-free 水没有主动灭活残留 RNase 的功能, 而任何方法提取的 RNA 都可能有残留的 RNase, 所以强烈建议客户使用本公司推出的具有主动灭活残留 RNase 功能的、同时跟后续 RT-PCR 等反

应兼容的液相 RNase 清除剂 (CAT#: 3091)。

附一：RNA 完整性的电泳检测 (仅供参考, 本产品不含相关试剂)

如果需要做 Northern 杂交, 强烈建议用户使用甲醛变性胶进行 RNA 电泳, 因为非变性胶不能分离所有的 RNA 分子 (BioTechniques, 28: 414, 2000)。如果是简单检测, 可以使用 TAE 缓冲液或超快核酸电泳液进行常规电泳, 但文献报道必须使用 RNAon 这样的变性上样液 (BioTechniques, 9: 558, 1990)。普通 DNA 上样液不含变性剂, 也没过去 RNase 处理, 所以最好不要使用, 否则 RNA 容易降解。

动物 RNA 电泳后应该在 UV 下呈现三条清晰的 rRNA 带, 28S rRNA 条带的荧光强度一般比 18S rRNA 条带的荧光强度高 1.5-2.3 倍。如果这两条 rRNA 带不清晰或比例小于此范围则表示 RNA 有降解 (因为大的 RNA 被酶降解的可能更大)。

跟动物一样, 植物果实和种子的 RNA 一般有三条电泳带, 但植物叶片的 RNA 有四条或更多 rRNA 带, 多余的 RNA 来源于叶绿体。

如果电泳发现 RNA 样品中有 DNA 污染 (一般是使用过多样品造成), 可分别用天泽基因的非酶 DNA 清除剂或 RNase-free DNase 清除。

附二：RNA 产量和纯度测定 (仅供参考, 本产品不含相关试剂)

用 pH 在 7.5-8.2 的 TE 缓冲液将 5-10 μ L RNA 稀释 10-20 倍后在 OD260 和 OD280 测光吸收, 通过光吸收可以得出 RNA 浓度 (1 OD260 的 RNA=40 μ g/mL), 进而计算出 RNA 的产量 (浓度 \times 体积)和产率(RNA 产量/组织用量)。RNA 的产率还随组织的营养状态和组织的种类不同而不同, 一般来说, 代谢旺盛的组织(如肝脏和肾脏)RNA 的产率高, 代谢不旺盛的组织(如肌肉和脂肪组织)RNA 的产率低, 下面是常见动物组织 RNA 产率:

肌肉, 胎盘和脑组织: 1-2 μ g RNA/mg 组织

肝, 胰和肾组织: 5-10 μ g RNA/mg 组织

培养细胞: 5-15 μ g/10E6 细胞

RNA 的纯度通过 OD260/OD280 来确定, 一般在 1.8-2.1 之间即算合格。但即使低于此范围, 一般也不会影响 RT-PCR 等反应。

蛋白质污染可以通过酚/氯仿抽提一次然后酒精沉淀去除, 多糖污染可以用天泽基因的多糖清除剂去除。

关联产品

RNA_{DOWN}、液相 RNase 清除剂、固相 RNase 清除剂