天净沙系列

CAT#:220148

常温运输，4℃保存

天净沙

动物 RNA 纯化试剂（沉淀法）

Animal RNA Purification Reagent (Precipitation Method)

使用手册 V1.01

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

产品及特点

本产品是跟 TRIzol 一样的、基于异硫氰酸胍/酚/氯仿提取 RNA 原理开发的快速总 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。它具有下列特点：

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。
4. 性价比高于进口 TRIzol 和 TRI Reagent 等同类产品。
5. 本产品只能用于科研。

规格及成分

本产品采用大立盒包装

成分	编号	规格	包装
动物 RNA 提取液	220148	250 mL	250 mL 棕玻瓶
使用手册	220148sc	1 份	1 份

运输及保存

常温运输，4℃保存，有效期一年。

自备试剂

氯仿、异丙醇、75%乙醇、RNase-free 水。

使用方法

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 RNase 污染清除剂彻底处理。

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. 对非冻型 RNA 保存液保存的组织（50-100 mg）：先用纸吸去 RNA 保存液后再剪切成小块，其余操作同第 3 步。RNA 保存液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均 30 秒。注意：一定要把官底的溶液震荡起来，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 μL)。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 μL 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℃待用。

附件：RNA 的浓度和质量检测

19. RNA的浓度可以用pH在7.5-8.2的TE缓冲液将5-10 μL RNA稀释10-20倍后在 OD260 和 OD260 测光吸收，通过光吸收可以得出 RNA 浓度（1

	OD260 的 RNA=40 μg/mL），进而计算出 RNA 的产量（浓度×体积)和产率(RNA 产量/组织用量)。RNA 的产率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。肌肉、胎盘和脑组织一般是 1-2 μg RNA/mg 组织，肝、胰和肾组织一般是 5-10 μg RNA/mg 组织，培养细胞一般是 5-15 μg/10E6 细胞。 20. 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。如果有蛋白质污染，可以通过酚/氯仿抽提一次然后酒精沉淀去除，如果有多糖污染可以用本公司的 RNA 多糖清除剂去除。
关联产品	植物 RNA 纯化试剂盒