

## 游离 RNA（血清血浆尿液）提取试剂

项目号：R665870

**储存条件：**2-8℃。

**产品内容：**

Component	R665870
	50preps
RNApureCirculatingReagent	50ml

### 产品简介：

游离 RNA（血清血浆尿液）提取试剂特别适用于从血清、血浆中分离纯化包括 microRNA 和其他小 RNA（<200nt）在内的总 RNA。本品灵活处理不同起始量的样品，在有效裂解样本的同时，可有效保存 RNA 的完整性，提取的总 RNA 完整性好，无蛋白和 DNA 污染，提取的 RNA 可用于 RT-PCR、NorthernBlot 和分子克隆等下游实验。

**自备试剂：**氯仿、异丙醇、75%乙醇、无 RNase 的水（新开封或提取 RNA 专用）。

### 注意事项：

1. 预防 RNase 污染，应注意以下几方面：
  - 1) 使用无 RNase 的塑料制品和枪头，避免交叉污染。
  - 2) 玻璃器皿应在使用前于 180℃ 高温下干烤 4 小时，塑料器皿可在 0.5MNaOH 中浸泡 10 分钟，用水彻底冲洗后高压灭菌。
  - 3) 配制溶液应使用无 RNase 的水。
  - 4) 操作人员戴一次性口罩和手套，实验过程中要勤换手套。
2. 提取的样品避免反复冻融，否则影响 RNA 提取得率和质量。
3. 本品中含有苯酚，具有毒性和腐蚀性。如果吸入体内、接触皮肤、吞食等会导致中毒、灼伤以及其他身体伤害。使用本制品时应穿戴防护物品，如防护服装、手套、眼罩、面罩等。如果不小心接触到眼睛，应立即用大量的水冲洗并前往医院治疗。
4. 样品用游离 RNA（血清血浆尿液）提取试剂匀浆后，如不即刻加入氯仿，置于-70℃ 可放置一个月以上。
5. 保存在 75%乙醇中的 RNA 沉淀，2-8℃ 可以保存一周，-20℃ 条件下可以保存 1 年。RNA 半衰期比较短，容易降解，建议提取后尽快进行后续实验，如反转录成 cDNA，NorthernBlot 等。
6. 若下游实验对 DNA 非常敏感，建议用不含 RNase 的 DNaseI 对 RNA 进行处理。

### 操作步骤

1. 取 200 μl 新鲜或者冻存的血清或血浆，加入 3 倍体积的游离 RNA（血清血浆尿液）提取试剂。振荡 30 秒，充分混匀。

注意：样本加入游离 RNA（血清血浆尿液）提取试剂后，可能会出现沉淀，经过振荡混匀后，沉淀基本消失。若仍有少量沉淀，不影响下游实验，可继续操作。

2. 将处理后的样品在室温放置 5 分钟，使蛋白核酸复合物完全分离。

3. 向以上溶液中加入氯仿, 每使用 1ml 血清/血浆样本专用总 RNA 提取试剂加入 0.2ml 氯仿, 盖好管盖, 剧烈振荡 15 秒, 室温放置 2-3 分钟。

注意: 如不能涡旋混匀, 可手动快速颠倒混匀 2 分钟。

4. 4℃ 12,000rpm 离心 20 分钟, 此时样品分成三层: 红色有机相, 中间层和上层无色水相, RNA 主要在水相中, 把水相转移到一个新的无 RNase 的离心管 (自备) 中。

5. 在得到的水相溶液中加入等体积异丙醇, 颠倒混匀, 室温放置 30 分钟。或 -20℃ 沉淀过夜, 效果更佳。

6. 4℃ 12,000rpm 离心 20 分钟, 弃上清。

注意: 离心前 RNA 沉淀经常是看不见的, 离心后在管侧和管底形成胶状沉淀。

7. 加入 75%乙醇 (用无 RNase 的水配制) 洗涤沉淀。每使用 1ml 游离 RNA (血清血浆尿液) 提取试剂加入 1ml 75%乙醇对沉淀进行洗涤。

8. 4℃ 12,000rpm 离心 3 分钟, 小心吸弃上清, 注意不要吸弃 RNA 沉淀。

注意: 剩余的少量液体可短暂离心, 然后用枪头吸出, 注意不要吸弃沉淀。

9. 室温放置 2-3 分钟, 晾干。加入 30-100  $\mu$ l 无 RNase 的水, 充分溶解 RNA, 得到的 RNA 保存在 -70℃, 防止降解。

注意: 沉淀不要过分干燥, 以免难于溶解。