



总RNA提取试剂

(RNAVzol)

产品说明:

本试剂是一种通用的总RNA提取试剂，适用于动植物细胞或组织及细菌的总RNA提取。试剂中含有对RNA酶有强烈抑制作用的胍类物质和苯酚等，可有效防止RNA在提取过程中的降解。获得的RNA可直接用于Northern杂交，纯化mRNA，体外翻译，RNase保护实验，RT-PCR，以及cDNA克隆等一系列操作。

产品内容与储存方法:

名称	数量	保存条件
RNAVzol	100 ml	4℃

可作100次总RNA提取（10平方厘米细胞或100mg组织）。常温运输，4℃保存。有效期12个月。

所需其它试剂:

使用者需准备氯仿，异丙醇，75%乙醇和RNA溶解液（DEPC处理水或TE缓冲液）。

操作方法:

1. 细胞裂解或组织匀浆:

- 1) 贴壁细胞：吸尽培养液，每10平方厘米（6孔板孔或35 mm平皿）细胞加入1 ml RNAVzol，使其覆盖培养细胞，再用吸管或加样器吹打2~3次，细胞应完全裂解，然后转移至离心管中。
- 2) 悬浮细胞：离心收集细胞，吸尽液体，每五百万至一千万（ $5 \times 10^6 \sim 10^7$ ）动植物或酵母细胞，或一千万（ 10^7 ）细菌，加入1ml RNAVzol。用吸管或加样器吹打，使其完全裂解。某些酵母和细菌如裂解不充分，可用匀浆器匀浆，以确保其完全裂解。转移至离心管中。
- 3) 组织：先将组织剪切成小块，放入玻璃匀浆器内。冷冻组织可在研钵中研磨匀浆。每50~100mg组织加入1ml RNAVzol，匀浆至完全裂解。转移至离心管中。

裂解产物应呈澄清的透明粘稠液体。室温放置5分钟。对于多糖、蛋白等杂质丰富的组织样品，匀浆后仍会存留有不溶物质，可12,000 g 4℃离心10分钟，然后吸取上清至一新的离心管中。

2. 分离:

在装有裂解物的离心管中加入0.2倍体积的氯仿（1 ml RNAVzol加入0.2 ml氯仿），振荡器上充分振荡混匀30秒，室温放置2-3分钟。12,000 g 4℃离心10分钟，然后吸取含总RNA的上层水相至一新的离心管中，每毫升RNAVzol约可吸取0.5~0.55 ml。有机相和中间层含有DNA和蛋白质，应避免触及。

3. 沉淀:

按每毫升最初的RNAVzol加入0.5 ml异丙醇，颠倒数次混匀，室温沉淀10分钟。12,000 g

4℃离心10分钟，在管底可见RNA沉淀。弃上清，每毫升最初的RNAzol加入1 ml 75%乙醇，轻轻颠倒混匀，以清洗RNA沉淀。弃去液体，小心勿丢弃RNA沉淀。室温倒置晾干（5~10分钟）。

2. 溶解:

加入适量DEPC水或TE缓冲液使RNA沉淀溶解。存放于-80℃。

注意事项:

- 1) RNA提取过程中所用器皿、离心管、吸头等应保污染无RNA酶。操作中应小心，防止外源性RNA酶污染样品导致RNA样品降解。步骤2中剩余的有机相和中间层可用于提取DNA和蛋白质。
- 2) 试剂中含有酚等有害物质，注意个人防护。