

GeneCopoeia Inc. 9620 Medical Center Drive, Suite 101 Rockville, MD20850, USA Tel: +1(301)762-0888; Fax:+1(301)762-3888 Web: www.genecopoeia.com

RNAzol® RT RNA Isolation Reagent

| 产品编号: QP025 | | |
|----------------------------------|--------|--------------|
| 产品名称 | 包装规格 | 运输及储存条件 |
| RNAzol® RT RNA Isolation Reagent | 100 ml | 室温储存,可保存至少2年 |

■ 产品简介

RNAzol® RT 是一种有效提取总 RNA,或分离大、小片段 RNA 的抽提试剂,可方便地从人、动植物等细胞或组织、体液样品中分离大片段(>200 nt)RNA 及小片段(<200 nt)RNA,操作简便易行。提取的 RNA 质量好,纯度高,没有蛋白和多糖的污染,可以用于 RT-PCR、qRT-PCR、基因芯片分析、Poly(A)+选择、RNA 酶保护分析以及其他分子生物学实验。

■ 注意事项

RNAzol® RT 含有苯酚(腐蚀性/有毒)和异硫氰酸胍(刺激物),易引起灼伤。处理该试剂时,请使用手套和口罩,切勿直接接触皮肤和衣物,避免吸入烟雾。如果发生接触,立即用大量清水冲洗眼睛或皮肤至少 15 min,如有必要,求医治疗。

■ 使用方法

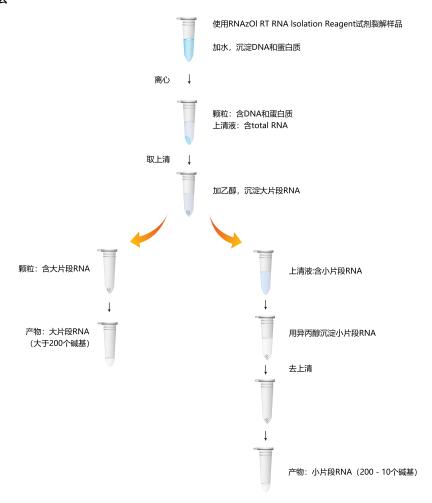


图1. RNAzol® RT RNA Isolation Reagent操作流程图

分离提取总 RNA

1. 样品处理

- (1) 培养细胞: 离心收集细胞,约5~10×10⁶个数的细胞加入1mlRNAzol[®]RT,反复吹打裂解细胞,裂解液转移至1.5~2 ml 离心管中。
- (2) 组织样品:取约 80~100 mg 样品至冷冻研钵中,加入液氮研磨至粉末状,转移至装有 1 ml RNAzol® RT 的1.5~2 ml 离心管中,振荡混匀后室温静置约 5 min。
- (3) 液体样品: 取约≤400 ul 样品加入装有 1 ml RNAzol® RT 的1.5~2 ml 离心管中,振荡混匀后室温静置约 5 min。

2. 相分离

每1 ml RNAzol® RT 加入400 ul ddH $_2$ O(RNase and DNase free),或补充 ddH $_2$ O(RNase and DNase free)至1.4 ml,盖上盖子,振荡混匀约 15 s,室温静置 5~15 min。10000 rpm 离心15 min。

3. 沉淀

转移上清至新的 1.5~2 ml 离心管中,加入等体积的异丙醇,室温静置 10 min。10000 rpm 离心 10 min。

4. 洗涤

弃上清,余下沉淀加入 400 ul 75% 乙醇,混匀后 7500 rpm 离心 1~3 min,此步重复一次。

5. 溶解

弃上清,自然风干沉淀,加入 50 ul ddH2O(RNase and DNase free)溶解,即为总 RNA。

分离提取大、小片段 RNA

1. 样品处理

- (1) 培养细胞: 先离心收集细胞,约 5~10×10⁶细胞数加 1 ml RNAzol[®] RT,反复吹打裂解细胞,裂解液转移至 1.5~2 ml 离心 管中。
- (2) 组织样品: 取约80~100 mg 样品至冷冻的研钵中,加入液氮研磨至粉末状,转移至装有 1 ml RNAzol® RT 的1.5~2 ml 离心管中,振荡混匀后室温静置约 5 min。
- (3) 液体样品: 取约≤400 ul 样品加入装有 1 ml RNAzol® RT 的1.5~2 ml 离心管中,振荡混匀后室温静置约 5 min。

2. 相分离

- (1) 每1ml RNAzol® RT 加入400 ul ddH₂O(RNase and DNase free),或补充 ddH₂O(RNase and DNase free)至1.4 ml,盖上盖子,振荡混匀约 15 s,室温静置 5~15 min。
- (2) 10000 rpm 离心15 min。小心取出离心管, RNA 位于最上层的水相中。

3. 分离大片段 RNA

- (1) 转移上清至新的 1.5~2 ml 离心管中,每 1 ml 上清加入 400 ul 75%乙醇,上下颠倒混匀后静置10 min。
- (2) 10000 rpm 离心8 min。
- (3) 转移上清至新的 1.5~2 ml 离心管,用于分离小片段 RNA。
- (4) 余下沉淀加入 400ul 75% 乙醇,混匀后 7500 rpm 离心 1~3 min,此步重复一次。
- (5) 弃上清,自然风干沉淀,加入 50 ul ddH₂O(RNase and DNase free)溶解,即为>200 nt 的大片段RNA。

4. 分离小片段 RNA

- (1) 上一步骤中用于分离小片段 RNA 的上清,加入 0.8 倍体积的异丙醇,混匀后-20℃静置 30 min。
- (2) 10000 rpm 离心15 min。
- (3) 弃上清,余下沉淀加入 400 ul 70%异丙醇,混匀后 7500 rpm 离心 1~3 min,此步重复一次。
- (4) 弃上清,自然风干沉淀,加入 50 ul ddH₂O (RNase and DNase free)溶解,即为<200 nt 的小片段RNA。

该产品仅限于实验科学研究用,若有任何单位或个人将该产品用于临床诊断、治疗等其他国家专门规定的特殊用途,本公司概不承担任何责任。



地址: 广州高新技术产业开发区广州科学城掬泉路3号广州国际企业孵化器F区8楼邮编: 510663客服电话: 020-32068595 E-mail: support@igenebio.com 网址: www.genecopoeia.com.cn