



RNAiso Reagent(No Chloroform)

RP101

Product Overview

产品概述

本产品是传统 Trizol 的免氯仿升级版，广泛适用于从各类动植物组织、培养细胞、细菌等样品中提取 Total RNA。

与传统 Trizol 提取方法相比，不需要使用氯仿进行分层，仅需加入 Dilution Buffer 充分混匀后离心取上清即可，操作简单方便，且全程可在常温进行。本产品提取的 RNA 纯度高，几乎不残留 gDNA 和蛋白质，提取的 RNA 可以直接用于 cDNA 克隆、qRT-PCR 检测、mRNA 纯化、体外翻译、Northern blotting 杂交、高通量测序等各种分子生物学实验。

产品组成

Product Composition

组 分	RP101A 200 rxns/500 μ L	RP101B 400 rxns/500 μ L
RNAiso Reagent(No Chloroform)	100 mL	2*100 mL
Dilution Buffer	40 mL	80 mL

注意事项

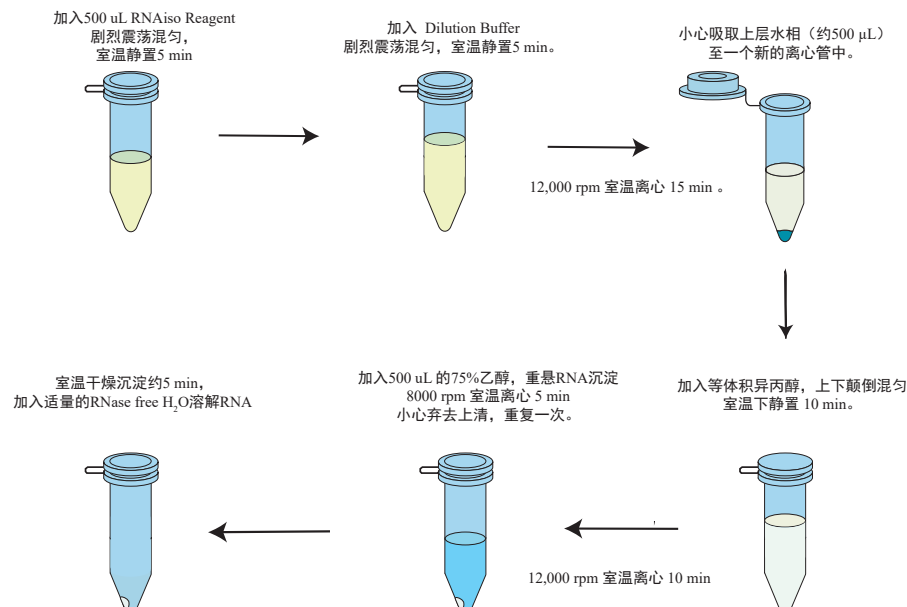
Precautions

- 使用 RNAiso 抽提 RNA 时要戴手套和护眼罩。避免接触皮肤和衣服。尽量在化学通风橱完成操作，避免呼吸道吸入。
(注：如果溶液不小心溅出接触到眼睛/皮肤，请立刻用大量清水冲洗，如仍有不适，请前往医院治疗。)
- RNA 提取过程中确保使用无菌无酶的试剂、器皿及耗材，避免 RNA 在提取过程中降解。
- 判定 RNA 是否合格最重要的指标就是无降解、完整性高，常规的分光光度计包括 Nanodrop 是无法通过测量 OD260/280 和 OD260/230 来确认 RNA 是否降解的。判断 RNA 是否降解可以通过跑 1% 琼脂糖电泳检测通过直接观察 28S:18S 比值来判断是否降解，或者用采用安捷伦 Bioanalyzer 2100 仪器检测，测定 RNA 产物的 RIN 值。

操作流程

Operation Process

❖ 流程概要



❖ 样本预处理

a. 动植物组织：

- 取新鲜或液氮冻存的动/植物组织在液氮中充分研磨（研磨过程中需要不断向研钵中补加液氮），直至研磨成粉末状（无明显可见颗粒）。

注：研磨不彻底有可能影响 RNA 的得率及质量。另外如果样本不适合用液氮研磨，可将组织尽量剪碎后配合电动匀浆器高速匀浆至组织块彻底裂解；

- 研磨完全后向提前分装了 RNAiso 的离心管中加入样品，每 500 μL RNAiso Reagent 添加 25 ~ 50 mg 植物组织（10 ~ 50 mg 动物组织），剧烈震荡混匀，室温静置 5 min 充分裂解样本。

注：样本处理量不宜过多，否则有可能导致样本裂解不够充分，影响 RNA 的得率及质量。

- （可选）12000 rpm 室温离心 5 min。小心吸取上清至新的 1.5 mL 离心管，切勿吸取沉淀，上清液进行后续的 RNA 提取操作。

b. 贴壁培养细胞

- 吸出培养液，细胞用 $1\times$ PBS 清洗一次。
- 吸出 PBS 洗液，常规 6 孔板每孔或直径 3.5 cm 平皿（约 10 cm^2 培养面积）的细胞加入 500 μL 的 RNAiso，轻摇培养皿，确保 RNAiso 溶液均匀分布于细胞表面。（注：对于贴壁牢固的培养细胞可用细胞刮勺剥离细胞。）
- 使用移液器反复吹打使细胞脱落，然后将内含细胞的裂解液转移至离心管中，再用移液器吹打直至裂解液中无明显沉淀（溶液清亮）。
- 室温静置 5 min 后，再进行后续的 RNA 提取操作。

c. 悬浮培养细胞

- 将悬浮细胞收集至离心管中，8,000 g 4°C 离心 2 min，弃上清。
- 向 $0.5\times 10^6 \sim 1\times 10^7$ 细胞中加入 500 μL 的 RNAiso。用移液器吹打直至裂解液清亮无明显沉淀。
- 室温静置 5 min 后，再进行后续的 RNA 提取操作。

❖ RNA 提取

- 1) 向上述裂解液中加入 Dilution Buffer。**动植物组织**：每 500 μL RNAiso Reagent 加入 100 μL Dilution Buffer；**细胞**：每 500 μL RNAiso Reagent 加入 150 μL Dilution Buffer。涡旋振荡至溶液充分混匀，室温静置 5 min。
- 2) 12,000 rpm 室温离心 15 min。小心取出离心管，此时溶液分成上层水相（含 RNA）和深色的下层沉淀（含蛋白质、DNA、多糖等杂质），小心吸取上层水相（约 500 μL ）至一个新的离心管中。
- 3) 在得到的上清溶液中加入等体积异丙醇，充分混匀，室温下静置 10 min。
- 4) 12,000 rpm 室温离心 10 min。离心后弃上清液，注意不要触碰到 RNA 沉淀。
- 5) 向离心管中加入与 RNAiso 等体积的 75% 乙醇（RNase-free ddH_2O 配制）轻弹管底使 RNA 悬浮在体系中，颠倒数次清洗 RNA 沉淀及离心管管壁。
- 6) 8000 rpm 室温离心 5 min，小心弃去上清，切勿触及沉淀（注：弃上清的时候，尽可能的去掉上清，可用移液枪吸干残留在管壁及管口的液滴。）
- 7) 重复步骤 5 和 6 一遍，弃尽上清。
- 8) 打开离心管盖，抽真空或室温干燥沉淀约 5 min。（注：如果乙醇残留较多，可延长干燥时间，切记不要使用离心干燥或者加热干燥，否则 RNA 将很难溶解。）
- 9) 向离心管中加入适量的 RNase free H_2O 溶解 RNA，涡旋 2 ~ 3 min 溶解 RNA。将溶解后的 RNA 放入 -80°C 中保存。

保存条件

Storage Conditions

$2^{\circ}\text{C} \sim 8^{\circ}\text{C}$ 保存。常温运输。保质期：3 年