

# AG RNAex Pro RNA提取试剂

AG RNAex Pro Reagent

Code No. AG21101

**包装量:** 100 ml  
**保存温度:** 4 °C 避光

## ➤ 产品概述

本产品可以从动物组织、植物材料、各种微生物、培养细胞等中提取 Total RNA。样品在 RNAex 中能够充分被裂解，在加入氯仿（或 RNA 提取辅助试剂 Code No. AG21303）离心后，溶液会形成上清层、中间层和有机层（鲜红色下层，含有蛋白质、多糖、脂肪酸、细胞碎片、DNA），RNA 分布在上清层中，收集上清层，注意不要收集中间层，经异丙醇沉淀便可以回收得到 Total RNA。使用 RNAex 提取 Total RNA 可在 1 小时内完成，提取的 Total RNA 纯度高，很少含蛋白质及基因组 DNA，可以直接用于 Northern 杂交、mRNA 纯化、体外翻译、RT-PCR 等各种分子生物学实验。如果有需要，可继续使用 DNase I 处理 Total RNA 以除去含有的微量 DNA。

## ➤ 安全操作

实验过程中可能会接触到强变性剂，实验操作开始前请穿戴合适的实验服、护目镜、口罩和手套，然后再进行实验操作。

注意：使用后溶液需要收集在废液桶中专门处理。

如果溶液不小心溅出，请立刻用大量清水冲洗，然后用浓度为 1% 的次氯酸钠溶液清洗。

详细信息请参考相关 MSDS 信息。

## ➤ 产品组成

AG RNAex Pro Reagent	100 ml
----------------------	--------

## ➤ 保存及运输

保存温度：4 °C 避光

运输温度：室温运输

## ➤ 实验前准备

氯仿（或 RNA 提取辅助试剂 Code No. AG21303）、异丙醇、80%乙醇（-20 °C 预冷）、RNase free water

## ➤ 注意事项

1、实验中使用的器皿，需要注意防止 RNase 污染。

2、实验操作过程中，请戴上一一次性手套和口罩进行所有试剂配制和实验操作，以避免 RNase 污染。

## ➤ 操作流程

样本种类	样本量	RNAex 使用量(mL)
组织样本	50-100 mg	1
贴壁细胞	1 X 10 <sup>6</sup> —2 X 10 <sup>7</sup>	1
悬浮细胞	1 X 10 <sup>6</sup> —2 X 10 <sup>7</sup>	1

## 操作流程

### 贴壁培养细胞

- ◆ 吸出培养液，细胞用 1X PBS 清洗一次。
- ◆ 吸出PBS 洗液，然后每 $1 \times 10^6$ — $2 \times 10^7$ 的培养细胞中加入 1 ml 的 RNAex，轻摇培养皿，确保RNAex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 分钟后，再进行后续的 RNA 提取操作。

### 悬浮培养细胞

- ◆ 将悬浮细胞收集至离心管中， $8,000 \text{ g } 4^\circ\text{C}$ 离心 2 分钟，弃上清。
- ◆ 向 $1 \times 10^6$ — $2 \times 10^7$ 细胞中加入 1 ml 的 RNAex。
- ◆ 用移液器吹打直至裂解液清亮无明显沉淀。
- ◆ 室温静置 5 分钟后，再进行后续的 RNA 提取操作。

### 动物组织、植物材料样品

- ◆ 将准确称取的 RNA 提取样品转移液氮预冷的研钵中，用研杵研磨组织（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，然后向粉末中加入适量的 RNAex 并混匀。（针对柔软易裂解的组织样本，可以使用匀浆器加入适量RNAex进行匀浆裂解。）
- ◆ 将上述混合液转移至离心管中，用移液器反复吹打充分混匀。室温静置 5 分钟， $12,000 \text{ g } 4^\circ\text{C}$ 离心 5 分钟。
- ◆ 小心吸取上清液，移入新的离心管中，再进行后续的 RNA 提取操作。

- 1) 向上述裂解液中加入 RNAex 体积量 1/5 氯仿（或 RNA 提取辅助试剂 Code No. AG21303），充分混合。室温静置 5 分钟。
- 2)  $12,000 \text{ g } 4^\circ\text{C}$ 离心 15 分钟。小心取出离心管，此时匀浆液分为三层，即：上清液（含 RNA）、中间蛋白层及下层有机相。
- 3) 吸取上清液转移至另一新的离心管中（切勿吸出中间蛋白层）。
- 4) 向上清中加入 1/2 倍 RNAex 体积的异丙醇，充分混匀，室温下静置 10 分钟。
- 5)  $12,000 \text{ g } 4^\circ\text{C}$ 离心 10 分钟。离心后弃上清液，注意不要触碰到 RNA 沉淀。

- 6) 向离心管中加入与 RNAex 等体积的 80%乙醇（ $-20^\circ\text{C}$ 预冷），清洗 RNA 沉淀及离心管管壁， $7,500 \text{ g } 4^\circ\text{C}$ 离心 5 分钟，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) 打开离心管盖，抽真空或室温干燥沉淀约 5 分钟。

(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。)

- 8) 向离心管中加入适量的 RNase free water 溶解 RNA。将溶解后的 RNA 放入  $-80^\circ\text{C}$  中保存。