

## RNA 提取水饱和酚试剂（pH<5.0）说明书

### 产品组成

Cat. No.	9044100
RNA 提取水饱和酚试剂（pH<5.0）	100 ml
说明书	1 份

### 产品储存与有效期

请将产品储存于 2~8°C，有效期为 1 年。

### 技术支持

杭州新景生物试剂开发有限公司研发部：e-mail: technical@simgen.cn, 电话：400-0099-857。

### 产品介绍

本产品是用乙酸缓冲液饱和过的酚，pH<5.0，为淡黄色透明液体，有刺激性气味，通常与异硫氰酸胍一起使用提取 RNA。上层为乙酸缓冲溶液，可阻止酚与空气接触，减缓酚的氧化；下层为酚相，含抗氧化剂 8-羟基喹啉。

### 用户需自备的试剂与物品

1. 经裂解缓冲液溶解后的生物样本
2. 2 M 乙酸钠溶液（pH 4.0），Buffer EX（Simgen, Cat. No. 9025100）（或者氯仿:异戊醇(24:1)溶液），异丙醇，75%乙醇，DEPC 水（Simgen, Cat. No. 9003100）
3. 可能需要 DNase I（Simgen, Cat. No. 8003050）
4. RNase-free 离心管、移液器及吸头（为避免 RNA 酶的污染，建议选用含有滤芯的 RNase-free 吸头）
5. 一次性手套及防护用品和纸巾
6. 台式少量离心机、旋涡振荡器

### 注意事项

1. RNA 提取水饱和酚试剂（pH<5.0）有较强的腐蚀性，请穿好实验服并佩戴一次性手套和口罩操作，避免皮肤接触或吸入体内。
2. 若发现产品变为红色或棕色，表明已发生氧化，不能继续使用。
3. 提取的 RNA 可能含有 DNA 污染，若需彻底去除 DNA，请用不含 RNA 酶的 DNase I（Simgen, Cat. No. 8003050）处理获得的 RNA；如果要进一步纯化 DNase I 消化后的 RNA，可选购 RNA 纯化试剂盒（Simgen, Cat. No. 5401050）。

## 操作步骤：

1. 先将生物样本用样本裂解液处理完毕，加入 0.1 倍体积的 2 M 乙酸钠溶液(pH 4.0)，以保证溶液的 pH 值为酸性。

\* 例如有 1 ml 样本裂解产物，则加入 100  $\mu$ l 2 M 乙酸钠溶液 (pH 4.0)。

2. 加入 0.5 倍体积的 RNA 提取水饱和酚试剂 (pH<5.0) (注意取下层酚相使用，勿吸取上层乙酸缓冲溶液) 和 0.5 倍体积的 Buffer EX 或者氯仿：异戊醇(24：1)，剧烈摇晃后再旋涡振荡 10 秒以上混合均匀。

\* 例如有 1 ml 样本裂解产物，则加入 500  $\mu$ l RNA 提取水饱和酚试剂 (pH<5.0) 和 500  $\mu$ l Buffer EX。

\* 氯仿：异戊醇(24：1)是体积比为 24：1 的氯仿、异戊醇混合液，可用本公司的氯仿替代试剂 Buffer EX (Simgen, Cat. No. 9025100) 替换，不影响提取效果。

3. 4°C，12000 rpm 离心 15 分钟，吸取上层水相，加入等体积的异丙醇，轻柔混匀，4°C，12000 rpm 离心 10 分钟。

\* 例如有 1 ml 上层水相，则加入 1 ml 异丙醇。

4. 弃上清，加入 1 ml 75%乙醇，旋涡振荡 30 秒漂洗沉淀，4°C，12000 rpm 离心 3 分钟。

5. 弃上清，低速离心数秒，用 200  $\mu$ l 吸头小心吸弃残留的乙醇。

6. 室温静置数分钟使残余乙醇挥发。加入适量 (50-200  $\mu$ l) DEPC 水，使 RNA 沉淀溶解。溶解的 RNA 可立即用于各种分子生物学实验；或者将 RNA 储存于 -70°C 以下备用。

\* 从某些样本中提取 RNA 时，RNA 不是在离心管管底形成白点，而是会以均匀的薄雾状沉淀形式吸附在管壁上。请注意仔细观察并在此步骤操作时特别留意将 DEPC 水加到管壁的相应位置上溶解 RNA。

\* 提取的 RNA 中通常都会含有少量 DNA 污染，如果需要完全去除 DNA，参考注意事项 3 内容解决。