

XYIzol Reagent 总 RNA 抽提试剂

产品信息:

产品名称: XYIzol Reagent 总 RNA 抽提试剂

规格:

目录号	产品名称	规格
X11411	XYIzol Reagent 总 RNA 抽提试剂	100ml

产品描述:

XYIzol Reagent 是一种即用型且操作迅捷的总 RNA 抽提试剂, 适用样本广泛, 包括人、动物、植物、酵母或细菌来源的细胞和组织样本。本品是一种含酚、异硫氰酸胍和其他专利成分的单相溶液, 有利于抽提分子量大小不一的各种 RNA 类型。能够良好的维持 RNA 完整性, 因能高效抑制样本匀浆过程中细胞破损和细胞组分溶解时释放的 RNase 活性。XYIzol Reagent 能够同时处理大量样本, 且以优化的方式一步法提取 RNA, 整个过程可在一小时内完成。

分离的总 RNA 无蛋白质和 DNA 污染, 适用于 RT-PCR、Northern Blot、Dot Blot、poly(A)⁺筛选、体外翻译、RNase 保护分析和分子克隆等下游实验。

使用说明:

1、需自行准备的材料

水浴锅

异丙醇

75%乙醇

含 0.5%SDS 的 RNase-free 水或 DEPC 处理水 (可选: RNase-free 的糖原)

2、样品的制备

当样品富含蛋白质, 脂肪, 多糖或是细胞外物质例如肌肉, 脂肪组织和植物的块茎部分时可能需要一额外的分离步骤。匀浆化后在 2—8°C 的条件下以 12,000×g 的离心力离心 10 分钟, 移除匀浆中不溶解的物质, 余下的沉淀中包含有细胞外膜, 多糖, 以及高分子量 DNA, 而上层的超浮游物含有 RNA。在来自于脂肪组织的样品中, 大量的脂肪漂在最上层因而应该除掉。在每一个个案中, 将清亮的匀浆溶液转移到一干净的试管中加入氯仿并继续进行下述的分离步骤。

3、分离阶段

将匀浆样品在 15—30°C 条件下孵育 5 分钟以使核蛋白体完全分解。每 1 ml XYIZOL 加 0.2 ml 氯仿。盖紧样品管盖, 用手用力摇晃试管 15 秒并将其在 30°C 下孵育 2—3 分钟。在 2—8°C 下以不超过 12,000×g 的离心力高速冷冻离心 15 分钟。离心后混合物分成三层: 下层红色的苯酚-氯仿层, 中间层, 上层无色的水样层。RNA 无一例外地存在于水样层当中。水样层的容量大约为所加 XYIZOL 容量的 60%。

4、RNA 的沉淀

将水样层转移到一干净的试管中, 如果希望分离 DNA 和蛋白, 有机层同样要予以保留。通过将水样层和异丙醇混合来沉淀 RNA。最初均化时的每 1 ml XYIZOL 对应 0.5 ml 异丙醇。将混合的样品在 15—30°C 条件下孵育 10 分钟并在 2—8°C 下以不超过 12,000×g 的离心力高速冷冻离心 10 分钟。RNA 沉淀在离心前通常不可见, 形成一胶状片状沉淀附着于试管壁和管底。

5、RNA 的洗脱

移去上层悬液。用 75% 的乙醇洗涤 RNA 沉淀一次, 每 1 ml 的 XYIZOL 至少加 1 ml 的 75% 乙醇。旋涡振荡混合样品并在 2—8°C 下以不超过 7,500×g 的离心力高速冷冻离心 5 分钟。

6、RNA 的再溶解

在操作的最后, 简单干燥 RNA 沉淀 (空气干燥或真空干燥 5—10 分钟) 不要在真空管里离心干燥 RNA。尤为重要, 不能让 RNA 沉淀完全干燥那样会极大地降低它的可溶性。部分溶解的 RNA 样品其 A260/280 比值 < 1.6。用移液管尖分几次移取无 RNA 酶的水或 0.5% SDS 溶液来溶解 RNA, 并在 55—60°C 下孵育 10 分钟 (当 RNA 以后要用于酶切反应时, 避免使用 SDS。) RNA 还能被 100% 甲酰胺 (除去离子) 再溶解并保存在 -70°C。

注意事项:

1) 所有离心管、枪头以及相关溶液都必须无 RNase 污染。对于塑料制品、玻璃和金属器皿、实验仪器等可使用懋康生物的固相 RNase 清除剂去除 RNase, 或者用含 0.01% DEPC 的去离子水浸泡过夜, 之后高压灭菌、烘干。对于实验溶液可使用懋康生物的液相 RNase 清除剂来处理或用 DEPC 处理水来配制。

2) 对新鲜组织或细胞样本的抽提效果通常优于冻存的组织或细胞, 由于组织或细胞冻融过程中可能存在一些 RNase 释放出来并酶切样品。若是不能及时抽提 RNA, 推荐先加入适

量 XYIzol Reagent, 之后裂解样品后再冻存。

3) XYIzol Reagent 含有毒物质, 请在操作过程中注意好防护工作, 戴好手套和护眼罩, 避免皮肤接触。在通风橱内完成操作, 避免呼吸道吸入。

4) 保存: 2-8°C保存, 有效期一年

5) 运输: 冰袋运输

本产品仅供科研使用, 不可用于临床诊断应用或其他用途。