版本：A1 修改日期：2025.02.17

核酸提取辅助试剂(25:24 替代试剂,pH < 5.0)

产品简介：

Leagene 核酸提取辅助试剂(25:24 替代试剂,pH < 5.0)，又称核酸抽提溶液或 RNA 抽提溶液(25:24)，由水饱和酚和氯仿替代物按 25:24 的体积比混合而成的，不含异戊醇，是传统苯酚-氯仿溶液 25:24 的优秀替代品。该抽提液 pH 小于 5.0，可以保证分相后 RNA 存在于上层水相中，主要用于样品中 RNA 的提取，不能用于 DNA 的提取。

酸性酚可使蛋白质变性，同时抑制了 RNase 的降解作用。氯仿抽提可加速有机相与液相分层，去除核酸溶液中的迹量酚。经常在酚-氯仿溶液中加入少量异戊醇，可以减少抽提过程中泡沫的产生。由于本产品不含异戊醇，根据需要自行添加，一般为核酸提取辅助试剂(1:1 替代试剂)：异戊醇=49:1 或 99:1。

其提取 RNA 的原理是样品通过 RNA 裂解缓冲液裂解后释放出 RNA，再通过 RNA 抽提溶液(25:24:1)抽提，去除样品中蛋白、多糖、酚类等杂质，再加入乙醇或异丙醇等沉淀核酸即可使 RNA 分离出来。该抽提溶液可以使蛋白质变性，同时利用 RNA、DNA、蛋白质三者的性质差别来分离 RNA。使用酚：氯仿：异戊醇抽提离心后的上层为含 RNA 的水相、中间为变性蛋白与 DNA，下层为有机溶剂相。该试剂仅用于科研领域，不适用于临床诊断或其他用途。

产品组成：

编号 / 名称	NE0508	Storage
核酸提取辅助试剂(25:24 替代试剂,pH < 5.0)	100ml	4℃ 避光
使用说明书	1 份	

自备材料：

1、新鲜植物材料、移液器、水浴锅、1.5ml 离心管、离心机、制冰机、低温冰箱

2、2×CTAB 提取液(RNase-free)、β-巯基乙醇、异戊醇、乙醇溶液(75%,RNase free)、DEPC 处理水

操作步骤(仅供参考)：

注意：以下程序请注意所有试剂都要保证 RNase-free。

1、配制 RNA 抽提溶液：按核酸提取辅助试剂(1:1 替代试剂)：异戊醇=49:1 混合即可。

2、配制 CTAB 提取液(RNase-free,含β-巯基乙醇)：临用前取 10ml 2×CTAB 提取液(RNase-free)，再加入 0.1ml β-巯基乙醇，混匀即可使用。

www.leagene.com

3、植物基因组 RNA 提取：取 0.2-0.5 克新鲜植物材料，于液氮中研磨成粉末；将粉末转入 1.5ml 离心管中，立即加入 0.7 ml 65℃预热的 CTAB 提取液(RNase-free,含β-巯基乙醇)，65℃水浴 30 分钟，间歇混匀。(注：CTAB 抽提液在低于 15℃时会形成沉淀析出，因此，在将其加入冰冷的植物材料之前必须预热，且离心时温度不要低于 15℃)

4、第一次纯化：12000 rpm 常温离心 5 分钟，转移上清至新的 1.5 ml 离心管中。上清中加入等体积的 RNA 抽提溶液，轻缓颠倒混匀 8-10 次，常温 12000 rpm 离心 10 分钟。为得到更高纯度的 RNA，可以重复一次。

5、第二次纯化：将上层水相转入新的 1.5ml 离心管中，加入等体积的核酸抽提溶液(24:1)(货号：NE0500)，颠倒混匀 8-10 次，常温 12000 rpm 离心 10 分钟。

6、沉淀 RNA：将上层水相转入新的 1.5ml 离心管中，加入 1/2 体积 7.5M LiCl（RNase-free），轻柔混匀，-20℃ 静置 30 分钟；12000 rpm 4℃ 离心 10 分钟。

7、漂洗 RNA：去上清，沉淀中加入 75%乙醇溶液或 RNA 沉淀剂(75%,RNase free)(货号：NE0049)，吹打漂洗沉淀，14000 g 4℃ 离心 3 分钟，吸弃乙醇。再次 14000 g 4℃ 离心 1 分钟，用移液器吸尽残余乙醇，超净台内吹干沉淀。(注：RNA 沉淀不能过分干燥，否则不好溶解)

8、贮存 RNA：加入 50-100μl 的 DEPC 处理水溶解 RNA，-80℃保存备用。

注意事项：

1. 产品需避光保存于 2-8℃。
2. 溶液长期静置后会有分相，下层为有机酚相。使用前摇匀并静置分相后取下层使用。
3. 本试剂有较强的腐蚀性，应尽量避免皮肤接触或吸入体内。
4. 每次转移水相应使用新枪头，防止有机相混入，造成交叉污染。
5. 本品含酚和氯仿类似物，具有挥发性，且有一定毒性，操作时需佩戴手套并在通风环境下进行，使用完毕后应及时密封保存。
6. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期：12 个月有效。常温运输，2-8℃ 保存。

www.leagene.com

相关产品：

产品编号	产品名称
NA0202	DNA Marker(100bp-2000bp)
ND0092	Tris-EDTA 缓冲液(1×TE,pH8.0)
NE0011	CTAB 抽提液
NE0049	RNA 沉淀剂(75%,RNase free)
NE0092	水饱和酚(Phenol Water)
NE0260	组织细胞 RNA 提取试剂盒(Trizol 提取法)
NE0500	核酸提取辅助试剂(24:1 替代试剂)
NH0012	磷酸缓冲盐溶液(1×PBS,无钙镁,RNase free)
NP0201	2×HotStart PCR Master Mix
NR0001	DEPC 处理水(0.1%)
NR0002	Trizol(总 RNA 提取试剂)
NR0053	RNA 保存液
PE0103	Acr-Bis(30%,29:1)

www.leagene.com