

核酸提取辅助试剂(1:1 替代试剂,pH < 5.0)

产品简介:

Leagene 核酸提取辅助试剂(1:1 替代试剂,pH < 5.0), 又称核酸抽提溶液或 RNA 抽提溶液(1:1), 由水饱和酚和氯仿替代物按 1:1 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, 作用等同于苯酚-氯仿溶液(25:24)。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, 去除核酸溶液中的微量酚。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 或其他比例。

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:

名称	编号	NE0512	Storage
	核酸提取辅助试剂(1:1 替代试剂,pH < 5.0)		100ml
使用说明书			1 份

自备材料:

- 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×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。

- 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。
- 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。

- 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°C 预热的 CTAB 提取液(RNase-free, 含 β -巯基乙醇), 65°C 水浴 30 分钟, 间歇混匀。(注: CTAB 抽提液在低于 15°C 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°C)
- 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°C 静置 30 分钟; 12000 rpm 4°C 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°C 离心 3 分钟, 吸弃乙醇。再次 14000 g 4°C 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 50-100 μ l 的 DEPC 处理水溶解 RNA, -80°C 保存备用。

注意事项:

1. 产品需避光保存于 2-8°C。
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°C 保存。

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)