

RNA提取方法

近年来,分子生物学的发展使得RNA的提取纯化在一些临床的病原微生物检测、基因的表达定量、RNA测序以及转录组分析等研究中变得十分重要。目前最常见的RNA提取方法有:有机溶剂萃取法、硅膜法和磁珠法。

1.硅膜法

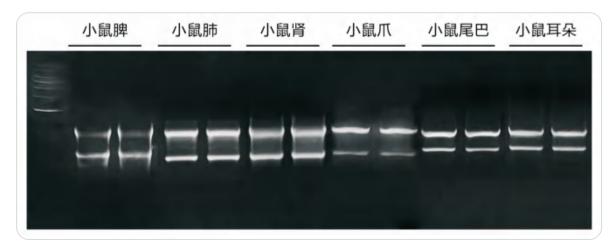
采用硅基质吸附达到RNA分离纯化的原理主要是利用核酸与硅基质材料在高盐条件下结合,在低盐条件下脱离的特征,其机理可能为高浓度盐离子破坏硅基质水分子结构,形成阳离子桥,核酸便容易与硅基质结合;而当盐被清洗后,硅石又可以重新水化,再水化的硅石便会破坏基质和核酸之间的吸引力,最后用RNase-Free 去离子水将RNA从硅胶膜上洗脱下来。而蛋白、有机溶剂等杂质在高盐条件下不能结合到膜上而被首先洗脱下来,因此用这种方法可以非常方便的得到高纯度的RNA。

相关产品

1.1Oriscience TurboPure Universal Cell/Tissue Total RNA Isolation Kit (快速高纯细胞/组织总RNA提取试剂盒) 【Cat No:NB303】



Oriscience TurboPure Universal Cell/Tissue Total RNA Isolation Kit 是一种高效RNA抽提试剂盒,可快速的从细胞以及动物组织样本(心、肝、脾、肺、肾、鼠尾、爪、肌肉、耳等)中完成RNA抽提。该产品相比于传统RNA提取试剂,柱式法RNA提取试剂盒具有快速(仅需10 min)、高效(完整性好,纯度、浓度高)、操作简便(全过程可在常温操作)、无氯仿等特点。本试剂盒可在迅速裂解细胞或组织的同时灭活细胞释放出的核酸酶,保持RNA的完整性,提取的RNA无DNA与蛋白污染,可直接用于qPCR、Northern blot、Dot blot、cDNA克隆、体外翻译等。



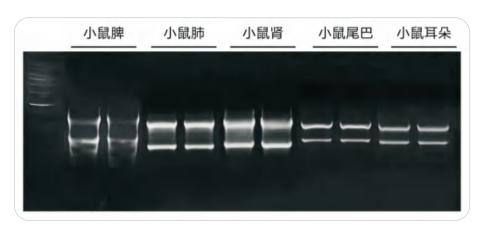
Oriscience TurboPure Universal Cell/Tissue Total RNA Isolation Kit提取部分动物组织效果图【小鼠脾、肺、肾、爪、尾巴、耳朵】



1.2Oriscience UltraRapid Cell/Tissue Total RNA Isolation Kit (快速细胞/组织总RNA提取试剂盒) 【Cat No:NB304】



Oriscience UltraRapid Cell/Tissue Total RNA Isolation Kit是一种即用快速型RNA抽提试剂盒,适用于动物细胞、组织(心、肝、脾、肺、肾等)的RNA抽提。该产品相比于传统RNA提取试剂,柱式法RNA提取试剂盒具有快速(6 min可完成RNA的提取)、高效(完整性好,纯度、浓度高)、操作简便(全过程可在常温操作)、无需使用β-巯基乙醇和酚/氯仿等有毒有害试剂的特点,能在迅速裂解组织或细胞的同时抑制细胞释放出的核酸酶,保持RNA的完整性。试剂盒中DNA-Cleaning Column能够有效的吸附去除基因组DNA,RNA-Only Column能高效地结合RNA,提取的RNA无DNA与蛋白污染,可直接用于qPCR、Northern blot、Dot blot、cDNA克隆、体外翻译等。



Oriscience UltraRapid Cell/Tissue Total RNA Isolation Kit提取部分动物组织效果图【小鼠脾、肺、肾、尾巴、耳朵】

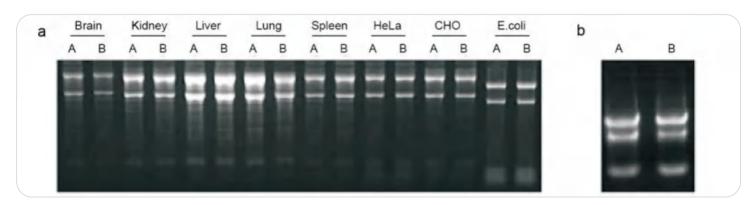
2.有机溶剂抽提法

异硫氰酸胍/苯酚法:细胞在变性剂异硫氰酸胍的作用下被裂解,释放胞内RNA,同时使RNA酶变性失活,保护RNA的完整性;在纯化过程中,样品会分为三层:下层为有机相,中层为变性蛋白质,RNA在上层水相。然后将上层水相分离出来并通过乙醇沉淀从而获得RNA产物。

相关产品

2.1 Orizol RNA Extraction Reagent (RNA提取试剂)

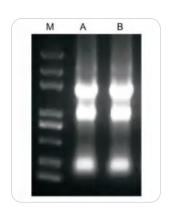
Orizol是一种即用型RNA抽提试剂,**适用于动植物细胞、组织及细菌的RNA抽提。**该试剂可在迅速裂解细胞或组织的同时灭活细胞释放出的核酸酶,保持 RNA 的完整性,提取的RNA无DNA与蛋白污染,可直接用于qPCR、Northern blot、dot blot、cDNA克隆、体外翻译等。



a. Orizol RNA Extraction Reagent(A)与T品牌RNA提取试剂(B)提取多种组织与细胞的RNA电泳效果图对比。b. Orizol RNA Extraction Reagent(A)与T品牌RNA提取试剂(B)提取A549细胞的RNA电泳图。

2.2 Orizol Chloroform-Free RNA Extraction Kit (无氯仿RNA提取试剂盒)

Orizol Chloroform-Free RNA Extraction Kit是一种无需使用氯仿的即用型RNA抽提试剂盒。**适用于动植物细胞、组织及细菌的RNA抽提**。该试剂可在迅速裂解细胞或组织的同时灭活细胞释放出的核酸酶,保持RNA 的完整性,提取的RNA无DNA与蛋白污染,可直接用于qPCR、Northern blot、dot blot、cDNA克隆、体外翻译等。



Orizol Chloroform-Free RNA Extraction Kit (B) 与T品牌RNA提取试剂(A) 提取A549细胞的RNA电泳图

3.RNA提取相关产品选择指南

| 产品名称 | 适用样本类型 | 提取原理 | 操作简便性 | 操作时间 | 安全性 |
|---|----------------------------------|---------|-------|--------|------|
| Orizol RNA Extraction Reagent (RNA提取试剂) | 动植物、酵母、 细菌等样本 | 有机溶剂抽提法 | *** | 1 h | *** |
| Orizol Chloroform-Free RNA Extraction Kit (无氯仿RNA提取试剂盒) | 动植物、酵母、 细菌等样本 | 有机溶剂抽提法 | *** | 1 h | *** |
| Oriscience TurboPure Universal Cell/Tissue Total RNA Isolation Kit (快速高 纯细胞/组织总RNA提取试 剂盒) | 细胞以及动物组织样本(心、肝、脾、肺、肾、鼠尾、爪、肌肉、耳等) | 单柱硅膜法 | *** | 10 min | *** |
| Oriscience UltraRapid Cell/Tissue Total RNA Isolation Kit (快速细胞/组 织总RNA提取试剂盒) | 动物细胞、组织(心、 肝、脾、肺、肾等) | 双柱硅膜法 | **** | 6 min | **** |

4.RNA的检测

1. 浓度、纯度

紫外分光光度计进行测量。

检测原理:核酸、核苷酸及其衍生物都具有共轭双键系统,能吸收紫外光,最大吸收波长是260 nm。

OD260 /OD280 = 1.9 ~ 2.1 说明纯度很好;

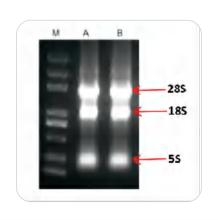
OD260 /OD280 < 1.9 表明可能有蛋白质残留;

OD260 /OD280 > 2.1 表明RNA 可能存在部分降解,建议进行完整度检测或者存在DNA残留;

OD260 /OD230 < 2.0 表明可能存在盐离子残留。

2. 完整度: 琼脂糖凝胶电泳, Agilent 2100

在真核样品中,完整的总RNA在进行琼脂糖电泳时会产生清晰的28S,18S和5S的rRNA条带。



5.常见问题及解决方案

Q1:RNA发生降解

- a. 确保提取RNA的试剂和器具没有被RNase污染。
- b. 戴口罩和一次性手套, 并在洁净区操作。
- c. 针对内源RNase含量高或不易匀浆的组织,可将组织切成小块后立即投入液氮冷冻后进行研磨,整个研磨过程中,样品不得融化。

Q2:样品中杂质较多

a.对于某些蛋白,多糖或脂肪含量较高的细胞或组织,orizol/Lysis Buffer裂解后可能会有不溶物或油脂状漂浮物,可 12,000 rpm, 4°C离心15 min,吸取上清至新的离心管中,按照相关产品说明书提示进行下一步操作。

Q3: 提取的RNA有基因组污染

a.吸取含RNA的上层无色水相时,应避免吸到中间层和下层液体。

6.产品选购指南

| 货号 | 产品名称 | 规格 | 市场价 |
|----------------|---|--------------------|---------|
| NB301-100 mL | Orizol RNA Extraction Reagent (RNA提取试剂) | 100 mL | 500.00 |
| NB301-2×100 mL | Orizol RNA Extraction Reagent (RNA提取试剂) | 2×100 mL | 900.00 |
| NB302-100 T | Orizol Chloroform-Free RNA Extraction Kit (无氯仿RNA提取试剂盒) | 100 T 【50 mL】 | 380.00 |
| NB302-200 T | Orizol Chloroform-Free RNA Extraction Kit (无氯仿RNA提取试剂盒) | 200 T 【100 mL】 | 600.00 |
| NB302-2×200 T | Orizol Chloroform-Free RNA Extraction Kit (无氯仿RNA提取试剂盒) | 2×200 T 【2x100 mL】 | 1100.00 |
| NB303-50 T | Oriscience TurboPure Universal Cell/Tissue Total RNA Isolation Kit(快速高纯细胞/组织总RNA提取试剂盒) | 50 T | 529.00 |
| NB303-100 T | Oriscience TurboPure Universal Cell/Tissue Total RNA Isolation Kit(快速高纯细胞/组织总RNA提取试剂盒) | 100 T | 958.00 |
| NB303-2×100 T | Oriscience TurboPure Universal Cell/Tissue Total RNA Isolation Kit(快速高纯细胞/组织总RNA提取试剂盒) | 2×100 T | 1558.00 |
| NB304-50 T | Oriscience UltraRapid Cell/Tissue Total RNA Isolation Kit(快速细胞/组织总RNA提取试剂盒) | 50 T | 628.00 |
| NB304-100 T | Oriscience UltraRapid Cell/Tissue Total RNA Isolation Kit(快速细胞/组织总RNA提取试剂盒) | 100 T | 1136.00 |
| NB304-2×100 T | Oriscience UltraRapid Cell/Tissue Total RNA Isolation Kit(快速细胞/组织总RNA提取试剂盒) | 2×100 T | 1908.00 |

order@oriscience.com