



Redzol（一步法总 RNA 提取试剂）使用说明

用户请自备以下试剂

1. 氯仿
2. 异丙醇
3. 75%乙醇（用 DEPC 处理的水）
4. DEPC 水或 0.5%SDS 溶液

操作方法

1. 准备

估算 Redzol 或组织细胞的用量。每 1ml Redzol 的组织用量为 50~100mg；细胞用量为 $5\sim 10\times 10^6$ 个细胞。

2. 组织或细胞的裂解

● 贴壁细胞

吸尽培养液，加入 Redzol，用枪反复吹打数次，确保全部裂解，然后转移至新的离心管中。裂解 10cm^2 细胞需要 1ml Redzol。

注：Redzol 的加入量不是根据细胞数目来决定，而是根据细胞培养皿的面积（ $10\text{cm}^2/\text{ml}$ ）来决定。

● 悬浮细胞

离心收集细胞，吸尽液体，加入 Redzol 用枪吹打数次，确保全部裂解（某些酵母和细菌要用匀浆器匀浆才能全部裂解），然后转移至新的离心管中。按 1ml Redzol 可裂解 $5\sim 10\times 10^6$ 动物、植物、酵母细胞或 1×10^7 细菌细胞的比例加入 Redzol 裂解细胞。

注：应避免在 Redzol 加入前洗涤细胞，这样会增加 mRNA 降解的几率。

● 组织

先将新鲜组织剪成小块，放入匀浆器内，加入 Redzol 用匀浆器匀浆，然后转移至新的离心管中。或者将组织在液氮中研磨成粉末后，加入 Redzol 中。每 50~100mg 的组织加入 1ml Redzol 进行裂解。

注：样品总体积不要超过所用 Redzol 体积的 10%。

3. 分相



- 1) 将匀浆液 15~30℃静置 5 分钟使其充分裂解。
- 2) 每 1ml Redzol 中加入 0.2ml 的氯仿，震荡混匀后 15~30℃静置 2~3 分钟。
- 3) 2~8℃ 12,000g 离心 15 分钟。离心后混合物分成三相（下面的酚/氯仿相、中间的白色界面、上面的无色水相）。RNA 全部在无色的水相中。

注：对于含有高浓度蛋白、脂肪、多糖或纤维素（肌肉、脂肪组织、植物的微管组织）的样品，在分相前可以附加一个分离步骤：匀浆后 2~8℃ 12,000g 离心 10 分钟弃沉淀。RNA 溶解在上清液中，纤维素、多糖、大分子量的 DNA 以不溶的形式沉淀从而与 RNA 分离。对于脂肪组织的样品，上面一层脂肪组织可以被清除掉，将清澈的匀浆液转移到另一新管中，继续进行第 3 步分相。

4. 沉淀 RNA

转移上层水相到另一新离心管中，按 0.5ml 异丙醇/1ml Redzol 比例加入异丙醇，充分混匀后 15~30℃静置 10 分钟，然后 2~8℃ 12,000g 离心 10 分钟，RNA 形成白色的小团沉淀在离心管的底部和侧面。

注：一定不要吸取中间界面；若同时提取 DNA 和蛋白质，于 4℃保留下层酚相。

5. 洗涤 RNA

弃上清，RNA 沉淀于管底。按 1ml 75%乙醇/1ml Redzol 加入 75%乙醇，漂洗 2~3 次 RNA 沉淀，2~8℃ 7,500g 离心 5 分钟，尽量弃上清。

6. 溶解 RNA

在无菌工作台中干燥 RNA 沉淀 5~10 分钟。可用 DEPC 处理的 50μl H₂O、TE buffer 或 0.5% SDS 溶解 RNA 样品，55-60℃温育 10 分钟使 RNA 完全溶解。

注：RNA 样品不要过于干燥，否则很难溶解。

常见问题解答

- 每 mg 组织或 10⁶ 培养细胞的 RNA 产率

肝和脾：	6~10μg	肾：	3~4μg
骨骼肌和脑：	1~1.5μg	胎盘：	1~4μg
上皮细胞：	5~8μg	纤维原细胞：	5~7μg

- RNA 产率低

样品裂解或匀浆不完全；提取的 RNA 溶解不完全。

- A₂₆₀/A₂₈₀<1.65



紫外检测时 RNA 样品应用水稀释，不能用 TE 稀释，低盐离子溶液和低 pH 值溶液致使其在 280nm 的吸收值增加 (Wilfinger, W. et. AL, Biotechniques 22: 474-481; Fox, D.K.(1998) Focus 20: 2 p.37)。样品匀浆时加入试剂体积太少，匀浆后溶液分层不明显，水相被酚污染。最后提取的 RNA 样品不能完全溶解。

- RNA 降解

使用的动物组织没有被立即冻上或放入 Redzol 中匀浆；分离使用的样品或制备的 RNA 长期贮存在-5~-20℃，而不是贮存在-60℃~-70℃。提取 RNA 的细胞被胰蛋白酶分解，易导致提取的 RNA 降解。水相或使用的离心管没有完全处理仍残留有 RNase。变性凝胶电泳使用的甲醛 pH 值低于 3.5。

- RNA 污染

样品匀浆时加入试剂体积太少；分离使用的样品含有有机溶剂（乙醇，DMSO 等），盐离子或碱溶液。

- 蛋白多糖和多糖污染

改进 RNA 沉淀方法：起始匀浆中每加 1ml 的 Redzol，水相中加入 0.25ml 的异丙醇和 0.25ml 的高盐溶液（0.8M 的柠檬酸钠，1.2M 的 NaCl），混匀，离心，接着进行下一步 RNA 的提取。此方法有效的沉淀了 RNA，而蛋白多糖和多糖仍保留在水相中。为了从多糖含量高的植物材料中获得高纯度的 RNA，推荐采用改进的 RNA 沉淀和起始匀浆液离心这些步骤。

北京赛百盛基因技术有限公司

全国统一热线：400 666 3029

地址：北京市海淀区上地四街 1 号院 2 号楼 202 室 邮编：100085

电话：010-62969345/46, 010-82784296/92 传真：010-82784290

Email: info@sbsbio.com

<http://www.sbsbio.com>