

# 改善 RNA 提取质量的十大要点

ABI 供稿，生物通翻译

**1.在收获组织及细胞死亡之后，应立即灭活内源的 RNA 酶，以防止 RNA 降解。**

以下 3 个方法均可有效使内源 RNA 酶失活：1) 用含离液（如胍盐）的细胞裂解液收获样品，并立即匀浆。

2) 用液氮瞬间冻结样品。值得特别注意的是：组织块必须保证足够小，在浸入液氮的瞬间就能冻结，以确保瞬间令 RNA 酶失活

3) 立即将样品置于 [RNAlater™ Tissue Collection: RNA Stabilization Solution](#) 中。它是一种水相、无毒的收集试剂，能立即稳定并保护完整、未冻结的组织 and 细胞样品中的 RNA。关键要点是组织样品切片一定要够薄（<0.5 cm），这样 [RNAlater](#) 才能在 RNase 破坏 RNA 之前迅速渗入组织块中。

## 2.使用正确的细胞或组织储存条件

在样品用液氮瞬间冻结之后，应该储存在 -80°C，千万不能解冻。即使是置于含有胍盐的裂解液中作匀浆前的短暂解冻，也会导致 RNA 的降解和损失。瞬间冻结的组织应该首先在超低温条件下先研磨成粉，然后置于裂解液中进行匀浆。

RNAlater 使样品储存更为便利。储存在 [RNAlater](#) 中的细胞或组织可在室温下稳定保存长达 1 个星期，在 4°C 可稳定保存长达 1 个月，或永久保存在 -20°C。有关 [RNAlater](#) 的更多信息请参考

[www.ambion.com/techlib/resources/RNALater](http://www.ambion.com/techlib/resources/RNALater).

## 3.彻底匀浆样品

细胞或组织的彻底匀浆对 RNA 提取来说，是一个很关键的步骤，它能够防止 RNA 的损失和降解。匀浆的方法应根据细胞或组织的类型来选择。大部分培养的细胞可以置于细胞裂解液中，通过简单的涡旋震荡来匀浆；而动物组织、植物组织、酵母和细菌则常常需要更加剧烈的方法。比如说细菌的细胞壁，就需要酶消化来实现彻底的细胞裂解和 RNA 的最大回收。有关各种不同的样本类型，哪些方法是最适合的匀浆方法，请参考

[www.ambion.com/techlib/tb/tb\\_183.html](http://www.ambion.com/techlib/tb/tb_183.html).

## 4.在 RNA 提取之前预处理样品裂解液

对于某些样品来说，在匀浆之后，RNA 提取之前，还需要一些额外的处理步骤。对于脂肪含量高的组织，像脑组织和脂肪组织得到的裂解液，就需要通过氯仿抽提来去除脂类，从而提高 RNA 产量。许多植物组织中富含多酚和多糖，会降低 RNA 的质量和产量，用 [Plant RNA Isolation Aid](#) 预处理裂解液可去除这些难以处理的成分。

## 5.选择最好的 RNA 分离方法

现有众多的 RNA 分离方法也许令人难以取舍。目前最简单也是最安全的方法是柱式分离，如 [RNAqueous™](#) 或 [RNAqueous-4PCR Kit](#)。因为操作简单，所以这些步骤特别适用



于同时处理多个样品。如果是处理复杂的组织，如富含核酸酶（胰腺）或脂肪（脑和脂肪组织）的样品，就推荐使用更加严格的、基于酚处理的 RNA 分离方法，如 [ToTALLY RNA™](#)。更多的信息请参考 [www.ambion.com/techlib/tn/83/8311.html](http://www.ambion.com/techlib/tn/83/8311.html)。更多方法选择，请参考 <http://www.ambion.com/techlib/trees/RNA/index.html>

## 6. DNase 处理

如果提取的 RNA 将用于 RT-PCR，我们推荐用 DNase 处理纯化的 RNA 样品以去除残留的 DNA 污染。当样品来源于富含 DNA 的组织，如脾脏时，DNase 处理也是一个好办法。Ambion 的 [RNAqueous-4PCR Kit](#) 的实验流程中包含了 DNase 处理的步骤，并提供了必需的试剂（DNA 酶 I）。[DNA-free™ DNase treatment & Removal Reagents](#) 则可用于去除用各种方法制备的 RNA 样品中的 DNA 污染。这两个产品都提供了高质量的 DNase I，优化的反应缓冲液，和 DNA 酶消化处理后简单快速去除 DNase 的方法，无需使用有机溶剂和热处理。

## 7. 减少环境 RNase 的暴露

为了得到完整的、高品质 RNA，在整个 RNA 制备过程中，当 RNA 离开强蛋白变性剂（如离液裂解液或酚）的保护时，避免引入新的 RNase 污染就非常关键。由于 RNase 几乎是无所不在，所以必须确保与纯化的 RNA 接触的每一样东西都是无 RNase 污染的。所有的表面，包括移液器、工作台、玻璃器皿和制胶设备，都必须用表面去污净化溶液如 [RNaseZap™](#) 或 [RNaseZap Wipes](#) 来处理过。必须保证一直使用[无 RNase 的枪头、试](#)

[管和溶液](#)，手套也应经常更换。

## 8. 正确的沉淀

纯化得到的 RNA 可能需要通过沉淀来浓缩，以满足一些下游应用的需要。醋酸铵 (NH<sub>4</sub>OAc) 沉淀（加 0.1 体积的 5 M 醋酸铵、2-2.5 体积的无水乙醇，-20°C 放置 25 分钟以上）可以很好地回收 RNA。如果需要定量回收低浓度的 RNA（ng/ml），可以采用共沉淀（如[糖原 glycogen](#)、[酵母 yeast RNA](#) 或 [linear acrylamide](#)）的方法。当 RNA 用于 RT-PCR 分析时，线性的丙烯酰胺和 DNase 处理的糖原都可以作为理想的共沉淀剂，因为它们都不含 DNA 污染。酵母 RNA 和未处理的糖原会给样品带来核酸污染，有可能影响 RT-PCR 的结果。沉淀后，注意避免 RNA 沉淀过分干燥，因为这可能导致很难重新溶解。

## 9. 重悬

许多 RNA 提取步骤的最后一步是溶解纯化的 RNA 沉淀。理想的重悬溶液应该满足 3 点要求：无 RNase 污染、较低的 pH 值（pH 6-7）、含有螯合剂，以保护 RNA 不受带入的 RNase 的降解。（[THE RNA Storage Solution](#) 能满足以上所有标准。）为了帮助溶解，RNA 沉淀可置于重悬溶液中在 65°C 孵育 5 分钟，并不时轻摇以帮助溶解。

## 10. 储存

如果只是短期储存，重悬的 RNA 应放置于 -20°C；如果是长期储存的话，就应该放置于 -80°C。尽管重悬于水或缓冲液中的 RNA 也可以储存在 -80°C，但保存于醋酸铵/乙醇溶液中的 RNA 沉淀则更加稳定。我们推荐将 RNA 溶液分装在几支管中。这会避免反复冻融损伤 RNA，并预防偶然的 RNase 污染。

ABI 供稿，生物通翻译

特别促销信息：即日起到 10 月 31 日，

[ABI 联手吉泰对 Ambion 系列试剂进行买一送](#)

[一促销，花一个试剂盒的价钱可以得到同样 2](#)

[个，相当于 5 折！你还不赶快囤货？不要错过啦（点击看促销信息网页版）](#)

买一送一产品列表

AM1912 RNAqueous® Kit	50 prep	100-10 <sup>7</sup> 细胞或者 1-75mg 组织	¥3,498
AM1931 RNAqueous®-Micro Kit	50 prep	10-10 <sup>5</sup> 细胞或小于 10mg 组织，适用于 LCM 样品	¥3,713
AM1911 RNAqueous®-Midi Kit	15 prep	10 <sup>7</sup> -10 <sup>8</sup> 细胞或者 0.1-0.5g 组织	¥2,772
AM1920 RNAqueous®-96 Kit	192 prep	高通量离心法 RNA 抽提试剂盒	¥8,745
AM9690 Plant RNA Isolation Aid	10 ml	植物样品辅助剂，配合 RNAqueous 系列产品使用	¥908
AM1924 RiboPure™ Kit	50 prep	包含 Trizol 与 GFF 膜法抽提试剂盒，适用于最高要求的 RNA 实验的抽提制备，每次可抽提 2x10 <sup>6</sup> 细胞或 100mg 以内的组织样品	¥4,785
AM1925 RiboPure™-Bacteria Kit	50 prep	细菌 RNA 抽提试剂盒，每次可抽提 10 <sup>8</sup> -10 <sup>9</sup> 细菌细胞	¥5,000
AM1926 RiboPure™-Yeast Kit	50 prep	酵母 RNA 抽提试剂盒，每次可抽提 10 <sup>8</sup> -10 <sup>9</sup> 酵母细胞	¥4,950
AM1983 MELT™ Total Nucleic Acid Isolation System	50 prep	包含 Melt 超级破碎系统，无需研磨，简单几分钟破碎裂解样品，使您不再需要砵钵与研磨棒	¥3,993
AM1975 RecoverAll™ Total Nucleic Acid Isolation Kit for FFPE	40 prep	有效从 FFPE 样本中纯化 RNA 与 DNA 的试剂盒	¥3,927
AM1921 PARIS™ Kit	50 prep	同时抽提 RNA、DNA 与蛋白质，并包含胞核胞质分离 buffer	¥4,175
血液抽提试剂盒			
AM1928 RiboPure™-Blood Kit	40 prep	30 分钟抽提 0.3-0.5ml 血液总 RNA，包含 RNAlater，保护全血防止 RNA 降解	¥5,973
AM1951 Mouse RiboPure™-Blood RNA Isolation Kit	25 prep	抽提 0.1-0.5ml 小鼠血液总 RNA，包含 microRNA，试剂盒含 RNAlater，保护全血防止 RNA 降解	¥3,003
AM1923 LeukoLOCK™ Total RNA Isolation System (1933 + 1934)	20 prep	包含创新的白细胞分离系统，可免去离心分离之苦，一次可处理 9-10ml 血液；包含 RNAlater，保护分离的白细胞 RNA 不被降解	¥8,580

磁珠法抽提试剂盒			
AM1840 MagMAX™ Total Nucleic Acid Isolation Kit	100 rxns	磁珠法抽提试剂盒, 可抽提 RNA 与 DNA, 无需离心步骤, 更加简便简洁	¥7,425
AM1830 MagMAX™-96 Total RNA Isolation Kit	96 prep	96 孔板高通量磁珠法 RNA 抽提试剂盒, 无需离心, 适合同时抽提大量样本, 可配合高通量移液系统使用	¥4,010
AM1837 MagMAX™-96 Blood RNA Isolation Kit	96 prep	96 孔板高通量磁珠法 RNA 抽提试剂盒, 无需离心, 适合同时抽提大量血液样本, 可配合高通量移液系统使用	¥4,868
AM1939 MagMAX™ Viral RNA Isolation Kit	50 prep	适合从各种样本中抽提病毒 RNA, 无需离心, 更好的产量与重复性	¥2,888
AM1929 MagMAX™ AI/ND Viral RNA Isolation Kit	50 prep	禽流感与新城病毒抽提试剂盒, 适合从各种样本中抽提低浓度 AI/ND 病毒, 美国国家畜牧服务实验室 NVSL 推荐	¥2,871
AM1835 MagMAX™-96 AI/ND Viral RNA Isolation Kit	4 x 96 prep	禽流感与新城病毒抽提试剂盒, 适合从各种样本中抽提低浓度 AI/ND 病毒, 美国国家畜牧服务实验室 NVSL 推荐, 适合大量样本同时抽提, 可配合高通量移液系统使用	¥16,088
mRNA 抽提与纯化			
AM1919 MicroPoly(A)Purist™ Kit	20 prep	PolyApurist, 是目前效率最好的 mRNA 纯化技术, 可从 10 <sup>8</sup> 细胞、50 mg 组织或 2–400 µg 总 RNA 中纯化 mRNA, 极低 rRNA 残留	¥7,260
AM1916 Poly(A)Purist™ Kit	6 prep	PolyApurist, 是目前效率最好的 mRNA 纯化技术, 可从 0.2–2mg 总 RNA 中纯化 mRNA, 极低 rRNA 残留	¥5,610
AM1922 Poly(A)Purist™ MAG Kit	from up to 8 mg total RNA	PolyApurist, 是目前效率最好的 mRNA 纯化技术, 可从多至 8mg 总 RNA 中纯化 mRNA, 无需离心, 操作更简便, 极低 rRNA 残留	¥7,062
AM10020 Oligo(dT) Cellulose	1 g	传统的 Oligo(dT) 数脂, 可用于从总 RNA 中纯化 polyA RNA	¥2,871
<a href="#">Ambion RNA 纯化绝代双骄最后一击</a>			
AM7020 RNAlater	100ml	原价 ¥1402.5	现价 ¥846
AM7021 RNAlater	500ml	原价 ¥4158	现价 ¥2574
AM9738 Tri-reagent	100ml	原价 ¥1898	现价 ¥788