

RareRNA 總量 RNA 抽取試劑

產品介紹：

本產品最大的特色在於能夠從大多數的樣品中，抽取純化高品質及高產量的 RNA。例如：血液細胞、培養細胞、一般選殖的細菌、動植物的組織、酵母菌、真菌，甚至血清、尿液、体液等…，因此適用範圍很廣，另外它也是目前 RNA 回收率最高的產品之一。本產品的萃取液中含有特定的 RNase 抑制劑，其抑制 RNase 的能力，遠比目前相似產品來得高。在抽取純化的過程中，客戶就無需特別在意器皿的問題，整個操作流程很快，大約 30 分鐘內即可完成。

本套組包含：RareRNA reagent：200 ml

需額外選購試劑：10× RBC lysis Buffer：200ml (使用前請加入 1800ml 的 H₂O)。

保存：本產品請保存在 4°C。

方法步驟：

在抽取 RNA 的過程中，其實有一個非常重要的關鍵，那就是樣品本身的新鮮狀況，一般而言樣品愈新鮮，相對地 RNA 的完整性也就愈高。根據處理樣品的差異可區別為：1.全血(2ml)；2.較難 Lysis 的如動植物的組織、酵母菌、真菌；3.培養細胞、細菌；4.血清、尿液、体液、小量全血(100ul)，因此步驟便有些許差異。

一、Lysis 細胞

1. 全血 RNA 的抽取：首先將抽取到的全血(請務必要加抗凝劑,不能凝固)以 2ml 的全血,加入 6ml 1 倍的 RBC lysis Buffer 混合均勻，放在冰上 5~10 分鐘後，以 450×g(約 3000rpm)離心 10 分鐘，儘量去除上液，留下底部的白血球細胞。(如果血紅素太多，可以再加入 3ml 的 RBC lysis Buffer 後，離心(約 3000rpm)5 分鐘，去除上液，再加入 RareRNA(1ml)來溶裂細胞。)

2. 較難 lysis 的動植物組織、酵母菌、真菌。建議用液態氮研磨或用組織均質機將細胞打破，取約 10~100mg 的組織量，以 1ml RareRNA 來溶裂細胞。
3. 培養細胞 RNA 的抽取：首先將 petri dish 中的培養液去除乾淨後，以 1ml 的 RareRNA reagent 加入一盤 3.5cm 的 petri dish 的比例，直接溶裂細胞。如果細胞、細菌是懸浮狀，則將其離心收集，去除培養液後，以 1ml 的 RareRNA reagent 溶裂細胞(1ml/5~10×10⁶)。
4. 屬於体液方面的樣品 RNA 抽取：体液(100ul)需加入 500ul 的 RareRNA reagent 來溶裂細胞。

二、RNA 的抽取純化：

1. 溶裂均質後的樣品(1ml)請放置室溫中 3~5 分鐘。
2. 加入 chloroform(0.3ml)，劇烈混合，放置冰中 5 分鐘後，離心(12000rpm) 5 分鐘。
3. 小心取出上清液到新的離心管中，再加入 2 倍量的酒精(95%以上),混合均勻，離心(12000rpm) 5 分鐘後，將上清液儘量去除乾淨，留下沉澱物。
4. 加入 70%的酒精(1ml)清洗管壁，spin down，將上清液儘量去除乾淨,留下沉澱物。【請勿過度乾燥,否則很難溶解】
5. 加入 50~200ul 的 TE Buffer(建議用 0.5%SDS)。

註 解：

1. 在整體操作過程中，對於器皿的要求並無特別規範，因為 RareRNA reagent 就含有很強的 RNase 抑制劑。
2. RNA 品質的好壞可以分成：(i) RNA 的完整性好不好，換句話說就是 RNA 有沒有被分解掉，這是非常重要的。在 RareRNA reagent 存在的狀況下，RNA 沒有被分解的疑慮，但是在樣品的取得或保存卻存在著很大的風險，一般將 RNA 保存於 DEPC 的水中，其實是一個非常危險的方式，尤其是不能長久保存。建議將 RNA 保存在 0.5~2%SDS 中，將可長久保存。至於 RNA 純度夠不夠則視所加入純化的樣品量而定，樣品量愈大，純度自然會降低。(ii) RNA 產量夠不夠，以 RareRNA reagent 而言是目前 RNA

產量最高的。歡迎與其他同類型的產品比較，即使是很微量的 RNA 病毒，RareRNA 也能回收，其回收率約 90%。關於有無 DNA 殘留的問題，雖然無直接證據證明一定沒有 DNA 殘留，不過經由 RareRNA reagent 純化後的 Plasmid，再以 PCR 方式來偵測，並沒有偵測到 Plasmid DNA 的存在。

3. 保存於 SDS 中的 RNA，可以使用本公司的產品 Nucarrier 來去除 SDS，時間大約 5 分鐘，回收率 95% 以上。
4. 最大樣品容許量：1ml RareRNA reagent/ 10^7 cultured cells；100mg tissues； 1×10^9 gram negative bacteria。產量約 10^7 cultured cells=150-200ug；100mg tissue =200-300 ug。

訂購資訊：

產品名稱	包裝	貨號
RareRNA Kit	1 kit	DNA-GPR02
10x RBC lysis buffer	200 ml	DNA-GP502