

RNA 溶解-长效保存液

R1130

描述: RNA 极易降解。纯化的 RNA 溶解于无 RNase 的 TE 或水中, 即便是储存于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 也难免降解。为解决这一问题, 可以将 RNA 沉淀或 RNA 溶液直接溶解于 RNA 溶解-长效保存液中, 允许 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 过夜或 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存至少 2 年, 保护样品 RNA 免于降解。RNA 溶解-长效保存液是 RNA 样品运输和中长期保存的最佳选择。需要时可用常规乙醇法沉淀回收 RNA, 或直接吸取储存于 RNA 溶解保护液中的高浓度 RNA(4 mg/ml)进行 RNA 电泳、Northern Blot。

储存: $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存 12 个月有效

用 RNA 溶解-长效保存液溶解 RNA 沉淀:

- a) 对固体 RNA 沉淀而言, 每 $0.4\text{-}4\text{ }\mu\text{g}$ RNA 沉淀加入 $1\text{ }\mu\text{l}$ RNA 溶解-长效保存液, 室温振荡 15-30 分钟溶解沉淀。干燥的 RNA 沉淀难以溶解, 可 $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ 加热 15 分钟或 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 溶解过夜。最好先用小体积无 RNase 的 TE 或水溶解 RNA 沉淀, 然后按液态 RNA 操作。

b) 对液态 RNA 溶液, 每 $0.4\text{-}4\text{ }\mu\text{g}$ RNA 溶液加入 $1\text{ }\mu\text{l}$ RNA 溶解-长效保存液, 混匀。注意混合液中 RNA 溶解-长效保存液的体积百分比不低于 80%。
2. 测定 OD 值。注意加入相应量的 RNA 溶解-长效保存液做空白。
3. 将溶解的 RNA 样品储存于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

从 RNA 溶解-长效保存液中沉淀 RNA:

1. 估计 RNA 溶液终体积。加入 4 倍体积的纯乙醇, 混匀。如果溶液中 RNA 含量低于 $0.25\text{ }\mu\text{g}/\mu\text{l}$, 或者溶液体积过小操作不便, 可先加入 $1/20$ 体积的 5 N NaCl 混匀, 然后再加入 4 倍体积乙醇。
2. 室温放置 5 分钟。
3. $12,000\text{ rpm}$ 5 min。弃上清。风干, 溶解。
4. 重新沉淀的 RNA 溶解后可用于 RT-PCR 反应。也可用于任何其他实验。

直接使用 RNA 溶解-长效保存液中的 RNA:

直接吸取 RNA 溶解-长效保存液中的 RNA, 进行普通或甲醛变性电泳和 Northern Blot。进行甲醛变性电泳时, 最后上样样品中的 RNA 溶解-长效保存液的浓度可高达 50%。

注意:

1. 如果 RNA 用于逆转录 RT-PCR, 不推荐直接使用 RNA 溶解-长效保存液中的 RNA, 应该用乙醇沉淀 RNA。
2. 在 RNA 溶解-长效保存液中的 RNA 的终浓度不应该超过 $4\text{ }\mu\text{g}/\mu\text{l}$ 。