



总RNA样本制备操作建议流程

一、总RNA提取的注意事项

1. 用于RNA提取的试剂及其他物品必须为RNase-free的，并且在洁净、不通风的环境中进行实验。
2. 客户应当选用EasyExtract、TRIzol或RNeasy等。自己熟悉的或公认可以得到良好实验结果的提取方法进行总RNA的提取。
3. 可以根据实际需要选择RNA的保存方法：需要长期保存的RNA样本保存于75%乙醇中；无需长期保存的RNA样本保存于RNase-free的双蒸水或Elution buffer中。
4. 建议客户送样时提供保存于RNase free的双蒸水或Elution buffer中的RNA样本。
5. 建议客户送样时提供RNA样本的电泳图谱以及相关的OD值等实验数据。
6. RNA样本的保存介质请务必在样本登记单上加以说明。
7. RNA样本完全干燥后很难溶于水，因此不要提供干燥状态的RNA样本。
8. 样本到达公司后，技术服务平台将在规定的工作日内进行质检。
9. 如果经质检证明RNA样本无法继续实验时，商务中心将及时与客户联系，协商进一步处理事宜。

二、总RNA质量判定标准

- 1) RNA样本的 OD_{260}/OD_{280} 应在1.7~2.2之间。
- 2) 总RNA电泳图谱有清晰的28 S、18 S条带,且亮度前者为后者的两倍。
- 3) 70° C水浴保温1小时后的电泳图谱与水浴保温前的图谱无明显差异。
- 4) 如果用Agilent2100检测, 2100 RIN \geq 7.0, 28S/18S \geq 0.7。



* 由于中间环节中不确定因素的存在，RNA样本的质量以我公司质检部检测得到的数据为准。

三、常用试剂及器材清单

1. 常用试剂及耗材的供应商

名称	规格	目录号	供应商
TRIzol Reagent	200 mL	15596	Life Technologies
TRIzol LS Reagent	100 mL	10296	Life Technologies
RNeasy Midi kit		75142	Qiagen
RNAlater™	500 mL	7021	Ambion
RNAsecure™	1 mL (25X)	7005	Ambion
DEPC	100 mL		Amersco
Tip (RNase-free)	各种规格		Axygen
微量离心管	各种规格		Axygen

2. 样本制备过程中需要使用的物品清单及其RNase-free处理

- (1) RNase-free处理 75%乙醇 用RNase-free 的Milli-Q水配制，分装为50 mL使用，4℃保存
- (2) Milli-Q水 DEPC处理(用磁力搅拌器平稳搅拌或37℃水浴过夜)，次日120℃15磅20 min 灭菌，分装于1.5 mL微量离心管中，4℃保存。
- (3) 氯仿、无水乙醇 新包装开封后，分装为50 mL使用，4℃保存。
- (4) 各种离心管、冷冻保存管和Tip等塑料制品 浸泡在0.1%的DEPC水中，37℃保温过夜，

次日烘干，120℃15磅20 min灭菌后再次烘干。

- (5) 匀浆转子、玻璃匀浆管、铝箔、碾钵、手术剪刀、镊子、移液管等玻璃、金属以及陶瓷制品 用铝箔纸严密包裹后，180℃干烤过夜。
- (6) 标签纸、油性记号笔、样本登记表、样本袋、液氮和液氮罐、干冰和干冰盒等。

试剂配制或分装过程中使用的实验耗材以及容器等必须是经过RNase-free处理的。

四、 具体流程

见各类试剂盒说明书。