武汉科尔普生物科技有限公司

Keep Biotechnologies Co.,Ltd

-

- **RNAfixer 无液氮 RNA 样品储存液**
- **目录号 RN15**
- **使用手册**
- **实验室使用，仅用于体外**

RNAfixer 无液氮 RNA 样品储存液

目录号：RN15

目录编号	包装单位
RN1501	**50ml**
RN1502	**100ml**

❖ 产品储存和稳定性：

透明液体， 室温(18-25℃)保存期限为12 个月，如果使用时发现有沉淀或者析出，可以在37℃加热重新溶解后使用，不影响产品质量。

❖ 产品介绍：

适用于动物组织（心，肝，肾，肌肉，睾丸，脑，脾等）、培养细胞、RNA 病毒、果蝇、细菌、白细胞、全血、一些植物组织等。

RNAfixer 是一种水相的，无毒的组织保存液体，可以迅速渗入新鲜组织细胞的胞浆中，在非冻状态下原位稳定和保护细胞内的 RNA。取下组织薄片后立刻浸入 RNAfixer 保存并不影响将来提取 RNA 的质量和数量。RNAfixer 消除了 RNA 样品需要立刻处理或者必须液氮保存的不方便。浸入 RNAfixer 后，新鲜组织细胞中 RNA 可以完好的在 37℃下保存一天, 在 25℃下保存一周, 4℃下保存一个月, 在-20℃或-80℃下长期保存。RNA 病毒样品(如 HCV 和 HIV)可在 37℃保存一个月。

❖ **产品特点：**

1. **操作容易：**将组织剪成适当大小，浸没在 RNAfixer 中即可使其 RNA 不被降解。
2. **无需液氮：**使样品的保存不需液氮,干冰或-80℃冰箱, 尤其适用于临床和野外样品的快速和大规模采集。
3. **方便运输：**处理过的样品能在 25℃保存一周, 使样品邮寄和运输变得容易和便宜, 有利学术合作和交流。
4. **多次冻融:** 经 RNAfixer 处理的样品可反复冻融多次, 其间可对样品进行各种处理而不影响最终提取的 RNA 的质量。
5. **可比性强:** RNAfixer 能减少大规模样品处理中的误差, 增加各次实验数间的可比性,对大规模基因表达谱的分析尤其有用。
6. **兼容性广:** 多种总 RNA 提取试剂都可以用来提取保存在 RNAfixer 内的样品。还可直接用于组织切片, 免疫学和流式细胞分析而不影响 RNA 提取的质量。

❖ **如何使用 RNAfixer：**

RNAfixer只用于新鲜组织，浸泡入RNAfixer前**禁止冷冻**组织。只需要迅速将新鲜组织剪成长，宽，高任意一边厚度<0.5厘米浸泡入RNAfixer即可（只要有一边厚度不超过0.5厘米，RNAfixer可以迅速渗透，其它两边的尺寸并不重要）。将新鲜组织浸泡在5倍体积的RNAfixer中，按照指示存放在适当的温度。

1. 动物组织

RNAfixer并不破坏或者溶解组织结构，因此浸泡在RNAfixer中达到渗透平衡的组织可以从RNAfixer中取出，然后切成更小的块，然后放回到RNAfixer中下次继续使用。小器官如小鼠肝，肾，和脾不需要剪切，可以完整的存放在RNAfixer中。

2. 植物组织

很多植物组织直接浸泡入RNAfixer即可，有的植物有天然渗透屏障如腊质保护层，需要先破坏掉腊质层，便于RNAfixer渗透。

3. 组织培养细胞

细胞吹打下来后，离心收集细胞,弃上清，用冰浴的PBS缓冲液洗一次去除残留培养液。将细胞悬浮在少量PBS缓冲液中。加入五到十倍体积RNAfixer, 混均。

4. 血和血浆

和红细胞和血清分离的白细胞可以和组织培养细胞一样的保存。RNAfixer也可以保存抗凝全血，血清和血浆。对于全血加入3倍体积RNAfixer，混匀。

5. 酵母

离心收集3X108的细胞（>12，000g离心两分钟），立刻将细胞团重悬在0.5–1 ml 的RNAfixer中。酵母细胞可以保存在RNAfixer中25℃8小时或者4℃一个星期。如果要保存存更长时间，将酵母细胞在RNAfixer中放置一个小时后， 再次于>12,000g离心5分钟，将酵母细胞团放入液氮瞬时冷冻后放置于–80℃储存。

6. 细菌

细菌并不能在RNAfixer 中生长，但是RNAfixer并不破坏细菌，*E. coli*在4℃ 保存一个月仍旧可以提出完整的RNA。

❖ **RNAfixer 中样本的存放：**

1. 存放在–80℃

   文档样品长期保存用。将RNAfixer中样本放置于4℃过夜，然后将样本捞出，尽量去除干净RNAfixer液体，然后放置于–80℃. 对于组织培养细胞，则不需要去除RNAfixer，直接冷冻于–80℃，并不会裂解细胞。样品使用时可以在室温融化，并且还可以再次冷冻而不影响RNA的完整性和产量。

2. 存放在–20℃

   将RNAfixer中样本放置于4℃过夜，然后转移到–20℃。在–20℃样品并不会被冰冻，但是可能会形成一些结晶，这并不会影响将来的RNA提取。样品使用时可以在室温融化，并且还可以再次冷冻而不影响RNA的完整性和产量。

3. 存放在 4℃

   样本可以在4℃存放一个月。

4. 存放于 25℃

   存放于25℃样本的RNA在一周内保持完整，保存两周的样品RNA有轻微降解，勉强能用于northern analysis, 但是质量足够用于nuclease protection assay or RT-PCR analysis。

5. 存放于 37℃

   存放于37℃样本的RNA在24小时内保持完整，3天的时候有部分降解。

❖ **RNAfixer 保存样本的 RNA 提取：**

将样本从RNAfixer中取出，RNAfixer可以直接倒入水池，用自来水冲即可，不需特殊处理。

1. 组织

用干净镊子将样本从RNAfixer中捞出，用吸水纸稍稍吸去残留的RNAfixer后，可以和新鲜组织一样按照液氮研磨，然后匀浆处理的标准程序进行提取RNA。

2. 细胞

对于储存在RNAfixer中的细胞有两种选择。一是去除RNAfixer后提取RNA, 另一个是直接从细胞和RNAfixer的混合物提取。

1) 去除 RNAfixer 后提取 RNA

存放于RNAfixer中的细胞变得不那么脆弱，可以承受较高的离心速度而不被裂解。我们有在5000g离心成功收集细胞的经验， 由于每种细胞的强度不一样， 可以先用不重要的细胞做个预试验，以保证在使用的速度下离心不会破坏细胞。另一个选择是在离心前加等体积的PBS稀释RNAfixer和细胞的混合物，以减少溶液的密度，使细胞溶液可以沉淀下来。

2) 不去除 RNAfixer，直接提取 RNA

也可以直接加10倍体积的一步法提取试剂（如TRIpure，TRI reagent）到细胞和RNAfixer的混合物，然后按照正常步骤操作。